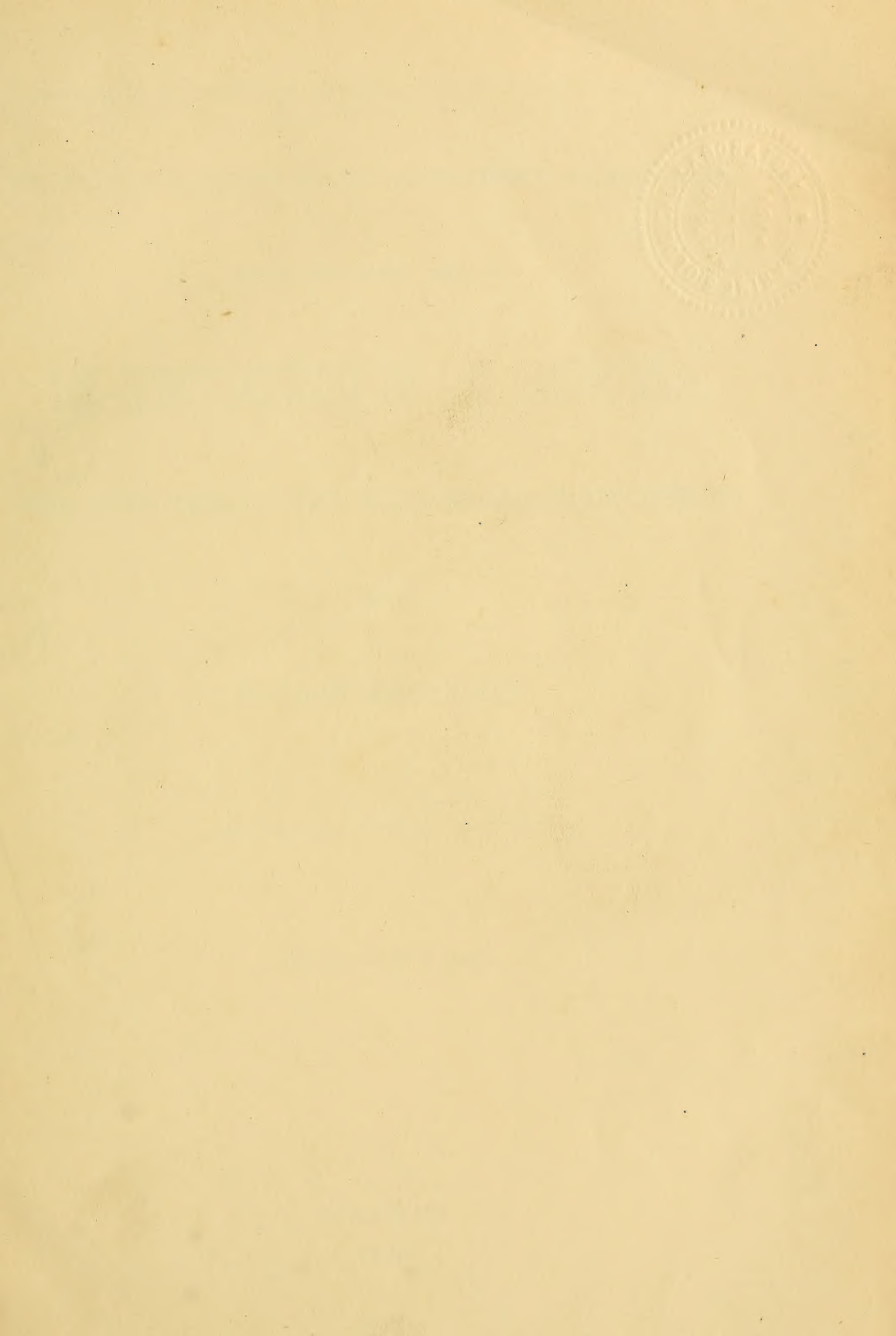


JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

TRABAJOS DEL MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES

Serie Zoológica, núm. 40.

# LOS HEMOCOCCIDIOS DE LOS LACÉRTIDOS

## OBSERVACIONES PREVIAS Y 1.ª PARTE: ESTUDIO DEL DESARROLLO DE KARYOLYSUS

POR

EDUARD REICHENOW

(con 8 láminas y 17 figuras en el texto)

(Publicado el 30 de Junio).

MADRID

1920

MADRID. — Imprenta y Librería de Nicolás Moya, Garcilaso, 6, y Carretas, 37.

## SUMARIO

Págs.

Introducción ........................................ 7
El transmisor ........................................ 11
Técnica ........................................ 21
Primera parte: Estudio del desarrollo de *Karyolysus*.
1. Ojeada sobre el ciclo vital de *K. lacertæ* y puntos de vista generales de la exposición ........................................ 25
2. Suerte de los gametocitos en el Ácaro ........................................ 32
3. Conjugación y formación de microgametos ........................................ 40
4. Fenómenos de fecundación y división reductora ........................................ 50
5. Primera parte de la esporogonía: Formación de los esporoquinetos ........................................ 64
6. Los esporoquinetos y la infección del huevo del Ácaro ........................................ 73
7. Segunda parte de la esporogonía: Formación de los esporozoítos en la generación hija del Ácaro ........................................ 82
8. Infección de la Lagartija ........................................ 93
9. Extensión de la infección de *Karyolysus* en la Lagartija ........................................ 102
10. Agamogonía y gamogonía ........................................ 118
11. Patología y fagocitosis ........................................ 129
12. Infección crónica y recidivas ........................................ 134
13. Cromosomas y modo de división del núcleo en los Coccidios ........................................ 137
Trabajos citados ........................................ 145
Explicación de las láminas ........................................ 149

## INTRODUCCIÓN

En mi trabajo sobre *Karyolysus lacertæ* (1913) hube de manifestar que, al emprender mi viaje de exploración al Cameron, me ví obligado a interrumpir súbitamente mis investigaciones sobre Hemococcidios. Varias cuestiones importantes que se presentaban en relación con el desarrollo de *Karyolysus* tuvieron entonces que quedar sin solución. No fué posible dar una exposición detallada sobre diferentes puntos de las relaciones del parásito de la Lagartija con su segundo patrón, el *Liponyssus saurarum,* pues hubiera sido necesario para ello haber hecho previamente una investigación anatómica e histológica minuciosa del referido Acaro. Tampoco se pudo fijar el camino que, desde el tubo digestivo, recorre la infección en la Lagartija, debido a que no pudieron realizarse infecciones experimentales en mayor escala. Dejé completamente sin resolver la cuestión fundamental para la sistemática y epidemiología de los Coccidios de la sangre, que es saber si el *Karyolysus lacertæ* está limitado a una sola especie de Lacértidos, al *Lacerta muralis,* o si vive también en otras especies y, por otra parte, si el mismo patrón puede albergar todavía en su sangre otras especies de Coccidios.

No encontramos en todo el reino animal ningún otro grupo de organismos cuya sistemática aparezca en tan lamentable estado como la de las llamadas «Hemogregarinas». De centenares de especies descritas hasta ahora, el único carácter es el nombre del animal patrón en el cual se encontraron los parásitos, pues la mayor parte de los autores consideran como especie particular cada «Hemogregarina» encontrada en otra especie

de patrón. Se han considerado también muchas veces como especies distintas ciertas formas de aspecto diferente que vivían en un mismo patrón. França (1909, 1910, *a, b*) ha ido muy lejos en este sentido, pues en tres especies de Lacértidos que investigó *(Lacerta muralis, L. ocellata* y *Tropidosaura algira)* distinguió nada menos que 14 especies y una subespecie de «Hemogregarinas», de las que 10 se encontrarían en Portugal. Por el contrario, Woodcock (1912) considera como una misma especie todas las formas descritas procedentes de *L. muralis* y *L. ocellata.*

Mi larga estancia en España durante la guerra, me ha proporcionado la inesperada y favorable ocasión de reanudar y proseguir en gran escala mis investigaciones sobre este particular. Gracias a la generosa hospitalidad que me ha sido dispensada en el Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, así como a las constantes atenciones con que el colega D. Antonio de Zulueta se ha adelantado a todos mis deseos, he encontrado la posibilidad técnica más favorable para realizar mis trabajos. La cuestión del material necesario para éstos resultó también admirablemente resuelta, pues en los alrededores y proximidades de Madrid se encuentran seis especies de Lacértidos, que albergan todas Coccidios en la sangre de parte de sus individuos. Me propuse, pues, además de completar mis investigaciones sobre el *Karyolysus lacertæ,* determinar cuántas especies de Hemococcidios aparecen en estos seis patrones y fijar cómo se distribuyen las especies de parásitos en las varias especies de patrones.

Para ello me apoyé en la suposición de que la verdad, como de ordinario, estaría aquí también en un justo medio. No esperé, pues, encontrar tan sólo una especie, como corresponde al concepto de Woodcock. En mi trabajo anterior di ya a conocer que las formas dobladas encontradas por varios investigadores en los eritrocitos de *L. muralis* no se presentan en la especie que fué entonces objeto de mis investigaciones; además

encontré entonces pequeños parásitos intraglobulares (representados en las figs. 71 y 72 del mencionado trabajo) que supuse pertenecían a otra especie. Por otra parte, creí también que la abundancia de especies de FRANÇA se reduciría sensiblemente con una investigación detallada aplicada a todas las fases de desarrollo; pero el resultado demostró lo contrario. El número de especies descritas por FRANÇA quedó, en verdad, algo reducido, pues la opinión adoptada por dicho investigador, de que una especie de parásitos esté siempre limitada a una misma especie de patrón, no es cierta con tal generalidad; pero, en cambio, he encontrado, principalmente en *L. muralis,* varias especies no descritas hasta ahora. He podido distinguir en la sangre de esta sola especie de Lagartija nada menos que ocho especies de Coccidios, entre los cuales no se encuentra ni siquiera la especie que investigué en Rovigno y que consideré como *Karyolysus lacertæ*.

Es muy probable que hubiera podido reconocer todavía mayor número de especies de Coccidios en el mismo patrón, si hubiese sometido a investigación aún más lagartijas de otras localidades. De tal modo el material iba acumulándose en mis manos, que el estudio del tema que me había propuesto con todos sus detalles hubiese requerido finalmente el trabajo de muchos años. Habiendo dedicado a este tema dos años, doy fin a este trabajo, después de haber puesto en claro, cuando menos en sus rasgos esenciales, las cuestiones importantes.

En oposición a la riqueza en especies de los Hemococcidios, se encuentra la uniformidad que observamos al considerar su desarrollo. Por este concepto, la mayor parte de las especies coinciden con el *Karyolysus lacertæ* y, por consiguiente, deben incluirse en el mismo género. Sólo existen tres especies — dos de ellas en *L. muralis* — que constituyen excepción. Incluyo estas tres especies — que coinciden entre sí por el desarrollo — en el género *Lankesterella,* pues las investigaciones han demostrado una relación de parentesco próximo con *L. minima* de la Rana

común. Como veremos más adelante—haciendo caso omiso del *Leucocytozoon*, aún no bastante conocido y que se aparta mucho del tipo—aparece aquí por vez primera, como parásito de la sangre, un representante típico de los Eimerídeos.

Presento dividido en tres partes el resultado de mis observaciones. La primera comprende la ampliación de mis investigaciones sobre el desarrollo de *Karyolysus*. Importa ante todo rectificar aquí un error en que incurrí en la interpretación de mis observaciones sobre *Karyolysus lacertæ*. Ha venido a resultar equivocado el considerar como ooquineto la fase grande y vermiforme que ocasiona la infección de los huevecillos en el Acaro infectado. Además, estudio especialmente las relaciones de los parásitos con el Acaro (condiciones de desarrollo, modo de infección de los huevecillos, suerte de los parásitos en la descendencia) y con el Lacértido (vía de infección, manera de extenderse en el patrón, importancia de la fagocitosis, etc.).

Cuando no son necesarias para el conocimiento de las distintas fases, no expongo las particularidades citológicas con todos sus detalles sino en aquellos casos en que se trata de resultados de interés teórico general. Tal ocurre, desde luego, en la cuestión de la aparición y constancia numérica de los cromosomas: he reunido en un capítulo especial, al final de la primera parte, todos los puntos de vista relativos a este asunto.

La segunda parte del trabajo comprenderá la exposición comparativa de todas las especies de Coccidios que he encontrado en las seis especies de Saurios objeto de mis investigaciones, lo mismo las que pertenecen al género *Karyolysus*, que las del género *Lankesterella*. Se tratará especialmente en esta segunda parte de la cuestión de la presencia de una misma especie de parásito en varios patrones. En esta parte discutiré también las relaciones de parentesco de *Karyolysus*.

En la tercera parte describiré el desarrollo de las tres especies de *Lankesterella*. Al final del trabajo haré una consideración general sobre el desarrollo del parasitismo de la sangre.

## EL TRANSMISOR

El Acaro *Liponyssus saurarum* Oudms., de la familia de los Gamásidos, que en mi trabajo anterior señalé como transmisor del *Karyolysus lacertæ,* desempeña, en efecto, el mismo pape para todos los parásitos de la sangre que he encontrado en los Lacértidos. Indiqué en otro lugar (1918) que hasta puede facilitar el transporte de parásitos intestinales que aparecen accidentalmente en la sangre, tales como *Eutrichomastix lacertæ.* Lo mismo que antes en Rovigno, he encontrado en Madrid dicho Acaro siempre muy abundante en los Lacértidos. Además, he observado muchas veces un pequeño Acaro anaranjado, que pertenece evidentemente a una especie de *Trombidium,* así como accidentalmente larvas y ninfas de *Ixodes ricinus.* Estas dos especies no son transmisoras de las especies de *Karyolysus* y, en cuanto al papel que accesoriamente pueden representar como vehículos de *Lankesterella,* trataremos de ello en la tercera parte.

El lector encontrará en Oudemans (1901) una descripción de la morfología de *Liponyssus saurarum;* he consignado en mi trabajo anterior (pág. 325) algunos datos biológicos, y repetiré aquí los que son precisos para la comprensión del desarrollo de los parásitos, resumiéndolos y completándolos en algunos puntos.

Los ácaros salen del huevo como larvas de tres pares de patas que aún no tienen organizado el intestino, por lo cual no toman alimento. Después de uno o dos días se transforman, mudando de piel, en ninfas de cuatro pares de patas. A los pocos días, una vez formado el intestino y consumida la substancia vitelina, atacan estas ninfas a los lacértidos, a cuyo cuerpo quedan agarradas durante un período de uno a cuatro días, antes de saciarse de sangre. Cuando han chupado sangre

hasta la saciedad, resulta fácil hacer la distinción entre las ninfas hembras y las ninfas machos, por sus tamaños respectivos, siendo mayor el de aquéllas que el de éstas. Al dejarse caer del cuerpo de los lacértidos suelen estar ya apareadas, llevando la hembra en el dorso al pequeño macho. La pareja va buscando un sitio abrigado, y para ello elige de preferencia el excremento seco de los lacértidos (véase la pág. 22), entre cuyos restos quitinosos se establece. La digestión se hace con rapidez y, una vez medio efectuada —después de unas veinticuatro horas—, tiene lugar la metamorfosis en individuos sexualmente maduros y, poco después, la fecundación. En mi trabajo anterior dije que el macho maduro, poco después, ya no chupaba sangre; pero luego he podido observar en algunos casos que el macho absorbe aún pequeñas cantidades de sangre y puede también todavía fecundar a otras hembras.

A los dos o tres días de estar fecundada, la hembra joven busca para su nueva alimentación algún lacértido. El acto de chupar a éste se realiza generalmente de noche, cuando el saurio está dormido. A consecuencia de la cantidad relativamente grande absorbida por la hembra, su forma, antes completamente deprimida y medianamente ancha, se vuelve casi esférica. A las veinticuatro o treinta y seis horas, después de completa saciedad, empieza la puesta de los huevos en un sitio resguardado. El número de huevos puestos durante el primer período de digestión es muy variable y depende de la cantidad, también muy variable, de sangre absorbida por los ácaros en su primer acto de succión. A este primer acto sigue, a los seis u ocho días, un segundo y, a los diez o catorce días de éste, un tercero, después del cual, en casos poco frecuentes, puede tener lugar un cuarto. Después de cada absorción de sangre, el ácaro hembra pone una parte de sus huevos; una vez concluida la puesta — unos 50 o 60 huevos — ya no toma la hembra ningún alimento más, queda inmóvil y se muere. A los cinco días de puesto un huevo sale ya la larva.

Los datos de tiempo antes mencionados se refieren a temperaturas entre 25° y 30° C. Vemos, pues, que la velocidad del desarrollo de estos ácaros con el calor, es extraordinariamente grande. Depende en alto grado de la temperatura.

En vista de que la disposición anatómica del *Liponyssus* se apartaba notablemente de las descritas para Acaros afines, tuve que someterle a un estudio bastante detenido, que se extendió también a particularidades histológicas. Sólo teniendo un conocimiento histológico suficiente del Acaro se pueden interpretar debidamente en la investigación de los parásitos las imágenes en las preparaciones por disociación mecánica, siendo menos necesarias las preparaciones de cortes, en las que nunca puede conseguirse una conservación tan buena de los Coccidios. Expondré los resultados de estos estudios de Acaros en un trabajo especial y me limitaré aquí a dar una corta descripción del aparato digestivo y del proceso de la digestión, así como la descripción de los órganos genitales de la hembra; datos que juzgo imprescindibles para la comprensión de lo siguiente.

La figura A del texto representa los órganos de digestión y excreción de un ácaro hembra todavía en ayunas, según la reconstrucción hecha mediante una serie de cortes. La sangre chupada por la musculosa faringe *(f)* pasa, mediante el estrecho esófago *(e)* que atraviesa el cerebro *(c)*, al intestino medio *(im)*. El intestino medio está provisto de ciegos, como ocurre generalmente en los Arácnidos. Como indica la figura, encontramos a cada lado una evaginación que a su vez se divide en una rama anterior y otra posterior; además la parte media forma un ciego corto, que se extiende dorsalmente por delante de la desembocadura del esófago, y otro ciego mayor hacia atrás. Todos estos ciegos se encuentran próximos a la parte dorsal del cuerpo; sólo la región central de la parte media se extiende, en forma de embudo, hacia la parte ventral, donde desemboca hacia atrás en el intestino final *(if)*. El intestino final no toma parte alguna en la actividad de la digestión; no tiene otro papel que el de

conducir los excrementos a un gran recipiente esférico, la vejiga rectal *(vr)*, de la cual pueden ser expulsados directamente

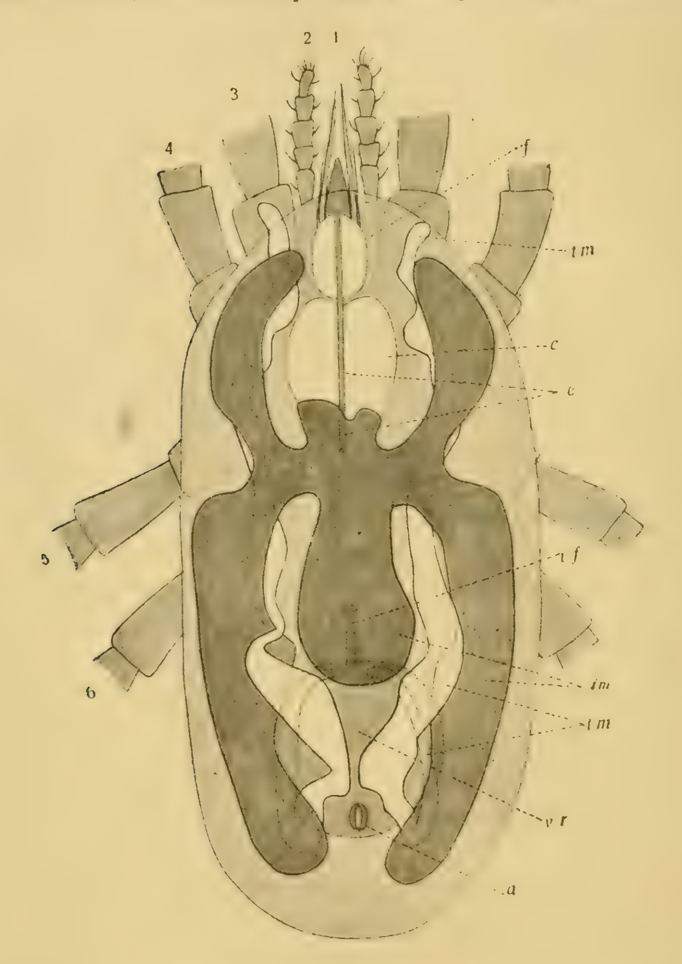



Figura A.

Aparatos digestivo y excretor de una hembra joven de *Liponyssus saurorum* antes de ingerir alimento, × 140. — 1, quelíceros; 2, pedipalpos; 3-6, patas. (La explicación de las letras se halla en el texto).

al exterior por el ano *(a)*. La vejiga rectal representa una cloaca, puesto que los órganos de excreción, los tubos de Malpighi *(tm)*, desembocan también en ella.

Los tubos de Malpighi son dos tubos sencillos, cuyos extremos anteriores empiezan en los artejos basales del primer par de patas. Se dirigen primero hacia atrás, pasando por debajo de los ciegos intestinales laterales anteriores, luego suben hacia la parte dorsal y se extienden hasta por encima de la vejiga rectal; detrás de ésta se doblan hacia abajo y después vuelven hacia adelante para desembocar finalmente por el lado inferior en la vejiga, a los lados del intestino final y cerca de su desembocadura.

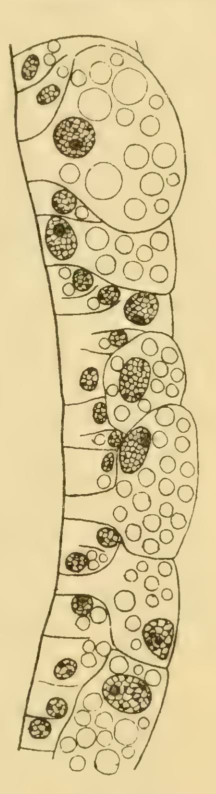


Figura B.

Corte de una parte del epitelio intestinal de de un *Liponyssus* antes de ingerir alimento, × 800.

El intestino medio sirve en todo su recorrido y de igual modo para la digestión, la cual se verifica de modo intracelular (véase Reichenow, 1918). Como el desarrollo de los parásitos está notablemente influído, como es evidente, por la serie de fenómenos que constituyen este modo de digestión hemos de discutir brevemente este proceso. La figura B representa un corte de una parte de la pared del intestino de un ácaro hembra joven en ayunas y la figura C otro corte análogo en el momento de mayor actividad de la digestión. Las células epiteliales son de tamaño muy vario; las mayores, engrosadas periféricamente en forma de matraz, cubren por completo a las más pequeñas. El epitelio está sentado sobre una membrana sin estructura, rodeada hacia fuera por una cubierta muscular, no representada en las figuras. Esta última no forma un estrato coherente; más bien, al contrario, las diferentes fibras musculares dejan entre sí una distancia notable.

Cuando el intestino medio se ha llenado de sangre (véase

la pág. 34), las mayores de las células claviformes forman unos pseudópodos, mediante los cuales se incorporan los glóbulos de la sangre de lacértidos (fig. C*d*, y fig. Ll*e*, 2). Habiéndose llenado de glóbulos dichas células, se retraen sus pseudópodos y

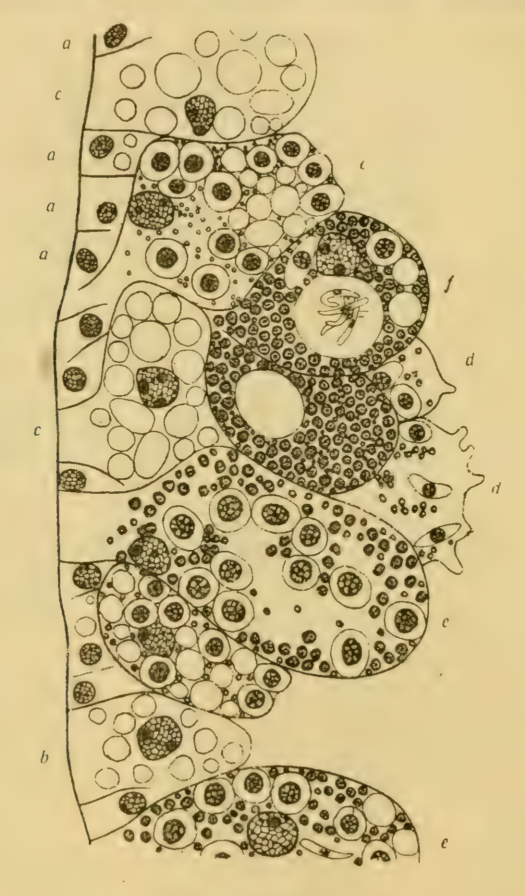



Figura C.

Corte de una parte del epitelio intestinal de un *Liponyssus* durante la digestión, × 800. (La explicación de las letras se halla en el texto).

los eritrocitos son digeridos, acumulándose entonces, como restos indigestibles, grandes granos de pigmento pardo (fig. C*e*, y fig. Ll*e*, 3). Al terminar la digestión empieza de nuevo la

fagocitosis, repitiéndose hasta que las células están completamente repletas de gránulos de pigmento, con lo cual quedan ya incapacitadas para posterior actividad (fig. C *f*, y la célula adyacente). Los fagocitos ya inútiles se separan del epitelio, flotando después libres en el interior del intestino, donde parte de ellos se destruyen (véase fig. Ll, $E_4$). Hacia el final de la digestión encuéntrase el intestino medio lleno de grandes cantidades de células eliminadas. A consecuencia de las contracciones de las fibras musculares que, a modo de ondulaciones desde la periferia al centro, se verifican en los ciegos, una parte de las células pasan por el intestino final a la vejiga rectal; pero la mayor parte de ellas no son expulsadas del intestino hasta el próximo acto de succión. Las células epiteliales más pequeñas (fig. C, *a)* entran en función a medida que los grandes fagocitos van inutilizándose. Penetran en los huecos *(b)* y van creciendo por su parte, transformándose en células claviformes. Las células claviformes menores *(c)* se limitan desde luego a la absorción de alimento líquido. En el epitelio del intestino no se verifica multiplicación ninguna de células; todas ellas se van destruyendo poco a poco por la actividad de la digestión; su número es suficiente para proveer a la alimentación del cuerpo, hasta que todos los huevos estén puestos. Entonces el intestino es senil y el ácaro tiene que morir.

Todos los glóbulos de la sangre que han pasado al intestino medio se conservan allí normalmente hasta que son absorbidos por los fagocitos (véanse las págs. 32 y 36). Pero en algunos casos se observa más pronto o más tarde una descomposición del quimo, que frecuentemente debe atribuirse a la presencia de una infección de bacterias. Estas son también incorporadas por las células epiteliales y digeridas.

En mi trabajo ya referido (1918) he demostrado que la digestión intracelular está extendida en los Arácnidos en general. En los Acaros chupadores de sangre, especialmente en las Garrapatas, se debe, pues, tener en cuenta los varios aspectos que pre-

senta el alimento medio digerido en las células epiteliales del intestino para no incurrir en errores en la investigación de los parásitos. Un ejemplo de tales errores lo tenemos en una investigación de França (1909). Dicho autor creyó descubrir en larvas de *Ixodes ricinus* fases de desarrollo de una especie de Coccidio que había encontrado en la sangre de *Lacerta ocellata* y descrito con el nombre de *Hæmogregarina schaudinni*. En las fases descritas y dibujadas por el mismo autor — que además tienen muy poca semejanza con «Hemogregarinas» — se trata tan sólo de restos intracelulares de alimentación.

Como indica la figura C, en el momento de mayor actividad de la digestión encontramos reunidas todas las fases. A consecuencia de ello ofrece el intestino medio, considerado desde el punto de vista citológico, una imagen en extremo variada. Aumenta esta variedad el hecho de que entre las células epiteliales se encuentran aún otras dos clases de células: 1) células rellenas de formas, que tienen aspecto de bastoncitos o filamentos; 2) huevos del Acaro.

Respecto a dichas formas filamentosas, trátase de *simbiontes* como no se han señalado todavía en Arácnidos, pero sí en numerosos Insectos. Aparecen estas formas en tres sitios: en el lado ventral del ciego medio posterior y en el lado central de los ciegos laterales posteriores. Obsérvase en los ácaros jóvenes que las células que albergan a dichos simbiontes están situadas entre la membrana muscular y el epitelio; el desprendimiento de las células epiteliales conduce a que, más tarde, limiten aquéllas directamente la luz del intestino, apareciendo entonces como partes del epitelio. Como los simbiontes son transmitidos regularmente a la descendencia, resulta que se ven también los bastoncitos o filamentos en el interior de los granos de vitelo del huevo. Me propongo hacer un estudio más detenido sobre este particular; no hago aquí sino llamar la atención sobre el mismo, pues — especialmente en los huevos — pueden originarse errores.

Finalmente, encontramos también, como indiqué antes, entre

las células del intestino medio, los huevos del Acaro, y este hallazgo nos lleva a decir algo de los órganos genitales de la hembra. El ovario, que es par, está unido de un modo muy particular con el intestino medio, pues se encuentra situado

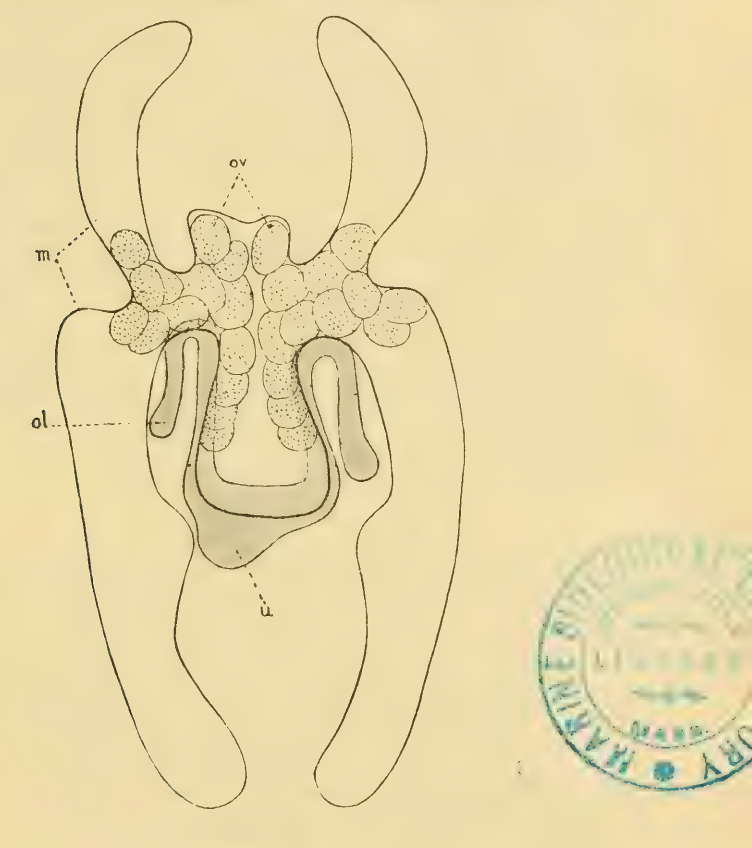



Figura Ch.

Situación de los ovarios *(ov)* de *Liponyssus* con relación al intestino medio *(m)*. Debajo del intestino se ve el útero *(u)* y las glándulas vitelógenas *(ol)*.

en el interior de la cubierta muscular del mismo. Al principio, los huevos deben estar situados debajo de las células epiteliales; pero, a consecuencia de su crecimiento rápido, vienen

pronto a apartar las células del intestino, de tal manera, que pasan a limitar directamente la luz del intestino, por lo cual parecen por completo una parte de la pared del mismo. (Véase fig. Ll, o).

La figura Ch representa la situación de los ovarios en la pared del intestino. Cubren dorsalmente la parte de desembocadura de los ciegos laterales y toda la sección anterior de la parte media; luego se dirigen en las paredes laterales del ciego medio posterior hacia el lado ventral, donde terminan separa-

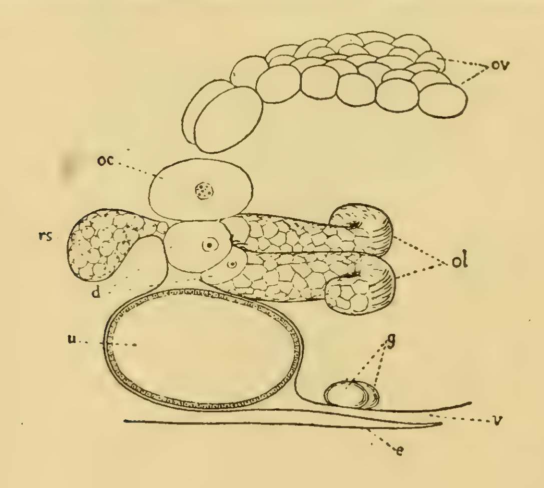



Figura D.

Esquema de los órganos genitales de la hembra de *Liponyssus*. (La explicacion de los letras se halla en el texto).

dos. Es de notar que aparecen también en todos los ácaros machos huevos en idéntica situación, aunque en menor cantidad.

Los huevos salen de los ovarios aisladamente, con intervalos de varias horas, encontrándose desde luego libres en el celoma, debajo del ciego medio posterior (fig. D, *oc*). En este lugar se efectúa la fecundación por un espermatozoide ameboide, que sale del receptáculo seminal *(rs)*; al mismo tiempo el huevo crece notablemente, principalmente por fusión con varias células vite-

linas *(d)*, que son formadas por un par de glándulas vitelógenas *(organum lyriforme*, MICHAEL) (figs. Ch y D, *ol.*) y que se anteponen en la entrada del útero. Cuando el huevo ha alcanzado su tamaño definitivo pasa al útero *(u)*. En él empieza en seguida el desarrollo, tan rápido que, en las pocas horas que transcurren hasta la puesta, encontramos un blastodermo completamente formado y también células entodérmicas (lám. I, fig. 8). La envoltura quitinosa del huevo parece ser tan sólo un producto del blastodermo, sin contribución por parte del animal madre. La puesta se verifica por el oviscapto *(v)*, dirigido hacia adelante y cubierto por la placa genital móvil *(epigynum, e)*. En el oviscapto desembocan dos glándulas *(g)*, unidas de tal manera con músculos, que se vacían en el momento de abrirse el oviscapto para dar salida al huevo. Es probable que la secreción de dichas glándulas hace al huevo pegajoso, de modo que queda adherido en el sitio donde es depositado por la madre.

## TÉCNICA

He empleado para la presente investigación los mismos métodos que describí en mis trabajos anteriores sobre Hemococcidios. Nunca insistiré lo bastante en que, para trabajos de esta clase, debe figurar en primer término la experimentación, si se quiere llegar a resultados positivos. La descripción e interpretación de las formas de parásitos tal como se encuentran incidentalmente en los patrones o patrones intermediarios recogidos, conduce a hipótesis más o menos aventuradas que vienen a resultar casi siempre inexactas, puesto que aun la fantasía del más atrevido teórico no alcanza a la variabilidad de la naturaleza.

La infección experimental, lo mismo de los Acaros que de los Lacértidos, constituye por lo tanto la base del presente trabajo. Evidentemente resulta este camino penoso y largo, y el anhelado fin de apoyar en la experiencia todos los resultados es apenas asequible, pues suelen presentarse numerosas dificul-

tades aun para la ejecución del experimento que más sencillo parece. Más adelante hablaremos con mayor detenimiento de las dificultades que hay que vencer en los ensayos de infección.

El cultivo de los ácaros resulta relativamente fácil, como ya lo indiqué en mi trabajo sobre *Karyolysus lacertæ*. He simplificado todavía el procedimiento que señalaba entonces, no tapando los pequeños cristalizadores que contienen los ácaros, sino aplicando tan sólo vaselina en sus bordes. Deben emplearse cristalizadores de pared gruesa que tengan su borde esmerilado, a fin de que la vaselina colocada sobre el mismo borde no pueda correrse al interior del cristalizador al elevarse la temperatura. Debajo de una campana de cristal reunía muchos cristalizadores y colocaba con éstos un recipiente conteniendo agua.

Se recomienda no emplear vaselina en los ensayos de infección experimental de los ácaros, sino atar un paño muy estirado sobre el borde del recipiente en el cual se hayan introducido lacértidos y ácaros. Al día siguiente se encontrarán la mayor parte de los ácaros repletos, agarrados al paño. Caso de que los lacértidos hubiesen depositado excrementos, convendrá desmenuzar éstos y examinarlos, puesto que los ácaros suelen buscar en los mismos algún rincón donde meterse (véase pág. 12).

No conseguí anteriormente resultado alguno satisfactorio al investigar los ácaros en cortes, porque no pude practicar entonces sino un número limitado de experiencias en este sentido. En las presentes investigaciones he conseguido una buena conservación de los ácaros, tanto en ayuno como en un período avanzado de la digestión, empleando el líquido de Carnoy, calentándolo hasta ebullición en un tubo de ensayo y vertiéndolo inmediatamente sobre el animal. También resulta satisfactoria con este procedimiento la fijación de los protozoos parásitos en todas las partes del cuerpo del Acaro, aunque no tanto como en las preparaciones por disociación mecánica. Sin embargo, el referido método deja algo que desear para la conservación de los ácaros cuando éstos se encuentran todavía completamen-

te repletos de alimento sin digerir, es decir, durante las veinticuatro primeras horas que siguen a la succión: ocurre en estos casos que los cortes se rompen con facilidad, dificultando, por lo tanto, la obtención de series completas.

Por lo demás, en lo que se refiere al método de conservación, remito al lector a mis datos anteriores. Nada hay que agregar de nuevo respecto de la completa falta de valor del procedimiento de fijación en seco que tan funesto ha sido para la investigación de los parásitos de la sangre; es absolutamente inaplicable a los Hemococcidios aun para la simple distinción de las especies, y resulta inútil para el fin diagnóstico, puesto que la investigación de una preparación fresca de sangre nos informa mucho mejor y con más rapidez sobre la existencia de una infección. Felizmente han sido muy pocas en estos últimos años las descripciones fundadas en este tosco método.

La descripción de las fases de desarrollo de las diferentes especies se funda también en este trabajo en preparaciones que han sido teñidas con la hematoxilina de Delafield. En varios casos, otros colorantes dan imágenes más claras, por lo cual se han empleado incidentalmente, pero hay que hacer constar que con ninguno de ellos se consiguen resultados tan generalmente satisfactorios como con el primero. Prescindiendo de esto, el fin principal de la descripción consiste en poder comparar y distinguir las formas de las varias especies, lo que sólo es posible cuando las descripciones, y sobre todo las figuras, se basen en material tratado del mismo modo.

---

# PRIMERA PARTE

## ESTUDIO DEL DESARROLLO DE *KARYOLYSUS*

### 1. Ojeada sobre el ciclo vital de *K. lacertæ* y puntos de vista generales de la exposición

Como esta parte del presente trabajo es la continuación de mis investigaciones sobre *Karyolysus lacertæ,* resulta que el conocimiento del ciclo vital de esta especie, según lo expuse en una nota preliminar de dichas investigaciones (1912), es una condición previa para la comprensión de lo siguiente. Para comodidad del lector parece, pues, indicado repetir aquí el ciclo vital, agregando los datos complementarios que me han proporcionado mis nuevas investigaciones.

La multiplicación por esquizogonía en *Lacerta muralis* se realiza de preferencia en los capilares sanguíneos de los órganos internos, pero evidentemente puede efectuarse por todo el cuerpo en los capilares. Las fases de multiplicación no se desarrollan en el interior de los glóbulos de la sangre, sino en el endotelio de los vasos. El merozoíto que acaba de penetrar (figura E, 1) aparece desde luego sin membrana, por lo cual es capaz de ejecutar movimientos de contracción y dilatación. La forma se vuelve más maciza durante el crecimiento; acumúlanse en el plasma materias de reserva, entre las cuales, en las preparaciones teñidas, aparece a primera vista principalmente la volutina. Poco antes de que se disponga el esquizonte para la división del núcleo, va rodeándose de una membrana. El esquizonte enquistado toma forma ancha, ovoidea. En todas las fa-

ses del desarrollo esquizogónico, ya desde los merozoítos más jóvenes, puede comprobarse en el núcleo un endosoma *(Binnenkörper)* situado en el borde del mismo, el cual se divide igualmente al dividirse el núcleo (fig. E, 2). Durante las divisiones nucleares, el esquizonte aumenta todavía notablemente de tamaño (fig. E, 3). El número de merozoítos procedentes del mismo oscila entre 8 y 30; al desprenderse éstos queda siempre un residuo. Los merozoítos permanecen bastante tiempo unidos en el quiste y van creciendo a expensas del residuo, por lo cual éste no puede ya observarse en el quiste maduro (figura E, 4). Finalmente, se abre el quiste y los merozoítos emigran a otras células endoteliales, donde se transforman de nuevo en esquizontes.

Los esquizontes de que proceden, al progresar la infección, las formas sexualmente diferenciadas se distinguen de los demás por el hecho de que, a igualdad de tamaño, se forma en ellos mayor número de merozoítos. Estos permanecen pequeños; no puede observarse en ellos el endosoma (fig. E, 5). No pueden reconocerse diferencias sexuales ni en los esquizontes ni en los gametocitos jóvenes. Estos últimos penetran en los eritrocitos, formando allí pronto una sólida membrana. En los parásitos enquistados el núcleo se corre a una extremidad de la célula (fig. E, 6*a* y 6*b*). Las formas femeninas crecen algo y en su núcleo se divisa, en el borde vuelto hacia el polo de la célula, un endosoma (fig. E, 6*b*). Sin embargo, mientras permanecen los parásitos en los glóbulos de la sangre, resulta difícil distinguir los sexos, pues entre las formas representadas en la figura E, 6*a* y 6*b*, existen todas las formas de transición.

La diferenciación de los sexos se hace más sensible cuando las formas sexuales se vuelven libres y se hacen vermiformes en el intestino de una hembra del Acaro *Liponyssus saurarum*. Las formas femeninas o macrogametos (fig. E, 7*b*) se diferencian de las masculinas o microgametocitos (fig. E, 7*a*) por su núcleo menos compacto y su endosoma grande, así como por

su mayor anchura; en los microgametocitos puede entonces comprobarse también la presencia de un pequeño endosoma. Un parásito femenino y uno masculino se colocan uno al lado del otro en el sentido de su longitud en una posición característica que recuerda la conjugación de los Infusorios (fig. E, 8). Las parejas así unidas penetran en una célula epitelial del intestino, donde se acortan (fig. E, 9), se envuelven en una membrana común y, finalmente, toman una forma más o menos esférica (fig. E, 10). Mientras va creciendo notablemente el macrogameto, el núcleo del microgametocito se divide en dos una sola vez y de los dos núcleos hijos (fig. E, 10) salen dos microgametos, al contrario de lo que sucede en todos los demás Coccidios conocidos hasta hoy del tipo *Adelea,* en los cuales una *doble* división nuclear conduce a la formación de *cuatro* microgametos. En la partición del núcleo del microgametocito queda el endosoma en medio, sin tomar parte en la división (fig. E, 10), y se puede después comprobar todavía su presencia en el residuo desprovisto de núcleo (fig. E, 11).

Cuando los dos microgametos se han desprendido del residuo, el macrogameto está también maduro para la fecundación. Su núcleo aparece entonces claramente limitado por el citoplasma que le rodea y presenta forma vesicular, estando situado inmediatamente debajo de la superficie de la célula. En dicho punto, uno de los microgametos penetra en el macrogameto y pasa al interior del núcleo de éste; el segundo microgameto permanece en la superficie de la célula hembra (fig. E, 11).

En mi trabajo anterior he admitido que el macrogameto fecundado se transformaba en una forma móvil, en un ooquineto; pero dicho concepto resulta erróneo. Al contrario, el oocisto crece notablemente (fig. E, 12); se llega, como en todos los Coccidios, a la formación de un huso de fecundación (fig. E, 13), y luego empieza el núcleo a dividirse. La primera división esporogónica es — como lo explicaremos más adelante — una división reductora. Durante las divisiones nucleares subsiste el

endosoma, lo mismo que en la esquizogonía, y se divide también cada vez. Cuando han terminado las divisiones nucleares (figura E, 14), el oocisto se disgrega en individuos grandes, vermiformes, ricos en materias de reserva (fig. E, 15). Estas formas, que había considerado antes como ooquinetos, tampoco son esporozoítos, puesto que la esporogonía no ha llegado todavía a su término: las denominaré *esporoquinetos*.

Los esporoquinetos, que alcancen una longitud notable — 40 a 50 μ —, penetran en los huevos de los ácaros, en cuya masa vitelina se acumulan. Allí, durante el desarrollo del embrión, toman una forma esférica y se rodean de una membrana. El quiste uninuclear que hemos de designar con el nombre de *esporocisto,* puesto que en él se forman los esporozoítos, se distingue por su endosoma de tamaño extraordinariamente grande (fig. E, 16). En las sucesivas divisiones nucleares queda también dividido como antes el endosoma. Próximamente al tiempo en que se efectúan las divisiones nucleares para la formación de los esporozoítos, las larvas de los ácaros salen del huevo. Cuando la larva muda de piel para transformarse en ninfa, entonces quedan terminadas las divisiones nucleares y los esporozoítos se desprenden, dejando un residuo (fig. E, 17). La ninfa en ayunas contiene ya los quistes maduros, que contienen de 20-30 esporozoítos y cuyo diámetro mide unas 20-25 μ. Sólo en el caso de que las lagartijas coman las ninfas, los quistes se abren en el intestino. Los esporozoítos son muy móviles en el jugo intestinal de las lagartijas y penetran en la circulación de la sangre a través del epitelio del intestino delgado, como se demuestra en el presente trabajo para una especie próxima. Seis semanas después de la infección se encuentran los primeros gametocitos en la sangre de las lagartijas.

Agregaré aún algunas observaciones a esta corta reseña del ciclo vital del *Karyolysus lacertæ,* referentes a los puntos de vista generales del modo de exposición. En el bosquejo del ciclo vital del *K. lacertæ,* así como del de la *Hemogregarina stepa-*

*nowi* (1910), he conservado la disposición clásica basada en las investigaciones de SCHAUDINN sobre la *Eimeria schubergi*. Esta concordancia facilita la comparación. En los Coccidios cuyo desarrollo completo queda limitado a un solo patrón, el empezar el ciclo vital por la esquizogonía es debido únicamente al hecho de que con estas fases comienza la infección del patrón. Esta disposición conduce muy naturalmente a la distinción de dos modos de multiplicación: uno anterior al acto sexual y otro posterior a él, que fueron distinguidos por SCHAUDINN, precisamente como reproducción asexual y sexual. Conviene abandonar este modo de ver, que se ha generalizado desde entonces, puesto que ya no coincide con nuestras ideas actuales. Hoy se sabe que la unión sexual es un proceso que no tiene nada que ver con la propagación, en cuanto se considere ésta como sinónima de multiplicación: la fusión de dos individuos celulares significa, por el contrario, una reducción del número de individuos y, además, dicho acto puede ser seguido lo mismo de una detención como de una excitación a la multiplicación (véase HERTWIG, 1902). Del mismo modo que no queda justificada la distinción entre la reproducción asexual y la sexual, tampoco puede justificarse la de una multiplicación antes y después de la fecundación. El acto de la fecundación es un comienzo; sólo por unión de dos organismos se forma un organismo nuevo; todos los individuos que proceden de las divisiones siguientes, no son más que partes del mismo organismo, cuya totalidad puede ser comparada de conformidad con HÆCKER (1912), con las sucesiones de las células generativas *(Keimbahn)* de los Metazoos. En uno y otro caso, son las células sexualmente diferenciadas las que representan el término del desarrollo. Resulta de esta consideración que la esporogonía de los Coccidios es un proceso que no representa el fin, sino el comienzo de la actividad de multiplicación. Cuando en los Coccidios el nuevo organismo producido por el acto de la fecundación empieza a multiplicarse ya antes de haber penetrado en un nuevo animal patrón, queda este hecho explicado

suficientemente por las ventajas que ofrece para la nueva infección la descomposición en numerosas partes. La aparición de formas llamadas «duraderas» al final de la esporogonía, tampoco puede inducirnos a ver en ellas el término de un desarrollo. En los Coccidios de la sangre, las verdaderas «formas duraderas» son, por ejemplo, los gametocitos, que pueden circular durante meses en la sangre de su patrón, mientras que estas especies no pueden permanecer mucho tiempo en la fase de esporozoíto, como demostraremos en el presente trabajo.

Si al describir el desarrollo de Coccidios quisiéramos tener en cuenta estas conexiones, tendríamos que empezar con la descripción de la fase de fecundación efectuada. Sin embargo, las formas que aparecen antes y después de la fecundación constituyen una cadena de fenómenos, que no sería ventajoso separar en la descripción. El conocimiento de los padres es pues necesario para la comprensión del nuevo organismo, y conviene para la exposición partir de las formas sexuales adultas. Así es como, guiado por consideraciones prácticas, he procedido ya en mis trabajos anteriores sobre «Hemogregarinas». Facilita el empezar de la descripción por estas formas, el hecho de que, en las especies que cambian de patrón, el desarrollo tiene su comienzo por estas fases en uno de los dos patrones.

En las especies de Lacértidos recogidos en los alrededores de Madrid que fueron objeto de mis investigaciones, he podido reconocer en conjunto ocho especies de parásitos, que por su desarrollo hay que incluir en el género *Karyolysus*. En la mayor parte de estas especies he hecho la investigación completa del desarrollo; en las demás examiné por lo menos las fases más importantes de él. Si quisiéramos exponer aquí la serie de resultados obtenidos en cada especie en particular, la historia de cada desarrollo no sería en sus puntos esenciales más que la repetición de las anteriores, puesto que en cada período del desarrollo no hemos encontrado más que pequeñas diferencias de procesos fundamentalmente iguales. Por otra parte, una dis-




Figura E.

Ciclo vital de *Karyolysus lacertæ*. × 1000.
(Explicación en el texto.)

cusión común de todas las especies y una descripción de las diferencias específicas para cada fase de desarrollo, haría la exposición muy desordenada y confusa. Por lo cual elijo en general sólo a dos especies como ejemplos, y accidentalmente hago referencia a otras: lo que merece recordarse de las formas características de cada especie, encontrará su lugar en la segunda parte, en la discusión sistemática.

A pesar de la concordancia fundamental de todas las fases de desarrollo, podemos dividir las especies de *Karyolysus* en dos grupos, caracterizados por el hecho de que, para uno de ellos, el desarrollo se realiza en el intestino y, para el otro, en el celoma del Acaro. Al primer grupo pertenece la especie que estudié en Rovigno. En vista de que, como lo recordé en la introducción, no pude encontrar aquella especie en los alrededores de Madrid, he escogido como representante del grupo otro parásito de *Lacerta muralis:* el *Karyolysus bicapsulatus* (*Hœmogregarina bicapsulata*, FRANÇA, 1910).

El nombre de esta especie no ha sido elegido de un modo muy apropiado, pues los gametocitos maduros en la sangre de las lagartijas a los cuales se refiere, están completamente rodeados, como también otras especies, de *una sola* cápsula, aunque la pared de dicha cápsula presenta en ambos polos un engrosamiento en forma de casquete, que se distingue por la gran facilidad con que se tiñe con materias colorantes básicas. En un punto del ecuador de la cápsula sale de la pared hacia el interior una formación semiesférica, muy refringente, que FRANÇA cita también en su descripción. Puede también comprobarse su presencia, mediante iluminación apropiada, en preparaciones conservadas; se tiñe con materias colorantes ácidas, por ejemplo, con eosina. Las particularidades de la estructura se manifiestan mejor en cápsulas vacías (fig. F).



Figura F.

Cápsula vacía de un gametocito de *Karyolysus bicapsulatus*, teñida por la hematoxilina de Delafield. × 2500.

Como representante principal del segundo grupo elijo una especie frecuente en *L. viridis*, el *Karyolysus biretortus (Hæmogregarina biretorta*, Nicolle, 1904). A este grupo pertenece también la gran forma doblada, ya descrita varias veces, de *Lacerta muralis, K. lacazei (Danilewskya lacazei*, Labbé, 1894), de la que debemos igualmente hacer referencia aquí. Los parásitos doblados no son esquizontes, como ha admitido Woodcock por analogía con mis observaciones en *Hæmogregarina stepanowi*, sino que representan los gametocitos de esta especie.

## 2. Suerte de los gametocitos en el Acaro.

Los procesos que se desarrollan en el intestino del Acaro después de la succión de sangre de lacértidos que contenga *Karyolysus*, son de naturaleza mucho más compleja y peculiar de lo que aparece en los cortos datos de mi trabajo anterior sobre *Karyolysus lacertæ*. En éste manifesté que los gametocitos quedaban en libertad por la descomposición de los eritrocitos durante la digestión; pero la descomposición de los glóbulos de la sangre de los Lacértidos en el intestino es un caso excepcional, como ya lo hemos demostrado (véase pág. 17); por regla general, suelen conservarse hasta que les llega el turno en la actividad fagocitaria de las células epiteliales del intestino. Los gametocitos del *Karyolysus* abandonan más pronto o más tarde el eritrocito que los alberga.

El momento de salida de los gametocitos varía según las especies. Tiene lugar más pronto en especies que han de emigrar al celoma de los Acaros para continuar su desarrollo. Así es que en el *K. biretortus* y *K. lacazei*, a las pocas horas (1) después de la succión por el Acaro no se encuentra ya ningún gametocito intraglobular. En el *K. bicapsulatus* y otros repre-

(1) Todos los datos se refieren, mientras no se indique otra cosa, a las condiciones de desarrollo a temperatura caliente, la que oscila entre 25° y 35° C.

sentantes del «grupo intestinal», la salida tiene lugar más tarde y no se efectúa al mismo tiempo próximamente por todos los individuos. A las veinticuatro horas después de la succión de la sangre, abandonan la mayor parte de ellos su cubierta. Se encuentran entonces en el contenido del intestino las cápsulas vacías muy resistentes, cuya forma se ha conservado perfectamente; sobre la pared de la cápsula queda todavía, de ordinario, como indica la figura F, el resto del núcleo del eritrocito. A las cuarenta y ocho horas, existen aún numerosos *bicapsulatus* intraglobulares; a los tres o cuatro días se pueden observar todavía individuos aislados. Son, principalmente, los gametocitos aún no completamente maduros los que más tardan en abandonar su sitio: pueden todavía terminar en parte su maduración, si se salvan de una fagocitosis prematura. Esto explica por qué más tarde se encuentran siempre algunas formas que han quedado más o menos atrasadas en su desarrollo, mientras que la gran mayoría de ellas está próximamente en una misma fase.

El diferente modo de conducirse de las distintas especies respecto al momento de la salida se explica fácilmente por las condiciones morfológicas. El *K. biretortus* y el *K. lacazei* se encuentran ya dentro del eritrocito, por decirlo así, en disposición de marcha. Poseen ya allí la misma forma de gusanillos que manifiestan luego cuando se mueven libremente (compárense para el *biretortus* las figs. 107 y 108 de la lám. VII, con las figs. 16 y 17 de la lám. II; y para el *lacazei,* las figs. 24 y 25 de la lám. II, con las figs. 26-28 de la misma lámina) y además están envueltos sólo por una delicada cubierta. Por el contrario, el *K. bicapsulatus* queda encerrado en su sólida cápsula como una forma típica de reposo, que se distingue especialmente por la situación polar del núcleo (lám. VII, figs. 93-96). Antes de comenzar la emigración, tiene el núcleo que retroceder hacia el medio, y la forma ancha y corta que presenta el cuerpo en la mayor parte de los macrogametos (lám. VII, fig. 95) ha de convertirse en una forma vermicular más delgada y larga (lám. II, fig. 9).

Inmediatamente después de que el Acaro se llena a saciedad de la sangre del Lacértido, comienza de un modo tumultuoso la actividad fagocítica de las células epiteliales del intestino (véase pág. 16). Debido a ello pasan los eritrocitos, así como los parásitos que albergan, al interior de las células. Asimismo los individuos que han salido ya, quedan agarrados con los pseudópodos e incorporados a los fagocitos (lám. I, fig. 2). El hecho de que el transporte de los parásitos al epitelio del intestino se efectúa esencialmente sin la cooperación de éstos, queda demostrado por las acumulaciones (lám. I, fig. 3) que se encuentran con frecuencia precisamente en dichas células, que manifiestan una vivísima actividad digestiva. Si una penetración activa de los gametocitos desempeñase un papel importante, entonces deberían encontrarse éstos repartidos con cierta regularidad en la pared del intestino. Entre los parásitos que llegan al interior de las células fagocíticas del intestino, sucumben muy rápidamente, a causa de la actividad digestiva de estas células, todas las formas no diferenciadas sexualmente y también los gametocitos aún no maduros, lo mismo que los elementos celulares de la sangre de los Lacértidos. Tampoco todos los gametocitos maduros se libran de esta suerte. Es particular el que la proporción de los gametocitos que se salvan a la digestión intracelular es muy variable en los diferentes individuos del Acaro. En numerosos casos sucumben todos de modo que en el Acaro no prosigue desarrollo alguno. Entre las causas que producen estas variaciones la más fácil de comprender es la temperatura. Desde luego el *Karyolysus* necesita calor para su desarrollo: con temperaturas que oscilan manteniéndose siempre inferiores a unos 15° C. parece que no pueda nunca continuar el desarrollo en el Acaro. La estación del año por sí misma no tiene influencia alguna: he conseguido tan buenas infecciones experimentales en Diciembre y Enero como en verano, trabajando con lacértidos y ácaros que fueron mantenidos en estufa. Pero aun con temperatura elevada hay que tener en cuenta otra circunstancia: la influencia de la tem-

peratura sobre la rapidez de la digestión del Acaro es en efecto extraordinariamente grande (véase REICHENOW, 1918): diferencias de pocos grados ocasionan una variación notable. Como no es de suponer que la temperatura óptima para la actividad vital del parásito coincida exactamente con la óptima para la actividad digestiva en las células del Acaro, resulta que la suerte de los gametocitos dependerá esencialmente de si el calor accidental del aire se aproxima más a una o a otra de estas temperaturas óptimas. Este factor de temperatura puede explicar el hecho de que el resultado de los ensayos de infección efectuados en diferentes días suela ser muy variable.

Pero que, independientemente de influencias exteriores, cada ácaro puede tener un modo diferente de conducirse, queda demostrado por la circunstancia de que, en una serie de ácaros alimentados al mismo tiempo en los mismos lacértidos y colocados después en el mismo recipiente, el resultado de la infección es muy diferente en cada individuo. Y realmente, esta diferencia es tal, que la investigación posterior de los huevos, en una serie de 10 a 20 ácaros, sólo rara vez muestra un grado aproximadamente igual de infección en dos individuos; en un caso se pueden encontrar en un huevo más de cien parásitos y en otro tan sólo uno o dos, mientras que de ordinario hay una proporción mayor o menor de huevos completamente libres de parásitos.

Antes tuve que dejar sin resolver la cuestión de si el quedar sin resultado un ensayo de infección en numerosas hembras del Acaro debía atribuirse a la presencia de dos especies muy parecidas de *Dermanyssus* parásitas de los Lacértidos; según mis nuevas investigaciones, la diversidad de especies no serviría de explicación. Esto resulta ya del hecho de que existen todas las transiciones entre una infección intensa, que corresponde en cierto modo al número de gametocitos absorbidos con la sangre, y una esterilidad completa; pero lo demuestra más aún el que, de los ácaros procedentes de un mismo animal madre, parte de ellos pueden ser sensibles a la infección y el resto no.

En algunos casos puede explicarse la debilidad o nulidad de la infección de los ácaros por la descomposición antes ya mencionada y bastante frecuente (pág. 17) del contenido intestinal. En la papilla alimenticia, más o menos homogénea, procedente de la descomposición de los glóbulos de la sangre, mueren los gametocitos aún no incorporados a las células epiteliales; resulta, pues, claro que, según que dicho fenómeno de descomposición tenga lugar inmediatamente después de la succión o más o menos tarde durante la digestión, ha de sucumbir la totalidad o una porción mayor o menor de los gametocitos.

Puede también observarse en casos en los que la digestión de los ácaros se efectúa de una manera típica hasta el último glóbulo de la sangre, que al final han desaparecido todos los gametocitos, mientras que en otros ácaros de la misma serie de ensayo prosigue el desarrollo. Aquí desempeña cierto papel la circunstancia de que, aun a igualdad de temperatura, la rapidez de la digestión de los ácaros es distinta en los individuos. El fenómeno puede observarse ya exteriormente en el color completamente negro que han tomado ya algunos ácaros, mientras otros conservan todavía una coloración francamente roja. El hecho se comprueba por la investigación de varios ácaros en el mismo momento. Se observa que las condiciones de conservación son tanto más favorables para los gametocitos, cuanto más lenta sea la digestión de la sangre. Además, varía mucho la cantidad de sangre que absorbe un ácaro en el acto de la succión. Es evidente que, en igualdad de circunstancias, cuanto menor sea la cantidad de sangre absorbida, tanto más rápida será la digestión. He sacado la impresión de que en ácaros muy repletos, las probabilidades de desarrollo — especialmente para el *K. bicapsulatus* — son mayores. He referido ya a estas causas el hecho de que en las ninfas del Acaro nunca continúa el desarrollo de *K. lacertæ*, e igual observación hacemos ahora para *K. bicapsulatus*.

Naturalmente, estas últimas consideraciones son menos apli-

cables a las especies de *Karyolysus*, que emigran al celoma de los Acaros. No es, pues, extraño que podamos observar en el *K. biretortus* y en el *K. lacazei* — más frecuente en la primera de estas especies — fases de desarrollo aun en las ninfas de *Liponyssus*. Nunca se encuentran en las células epiteliales acumulaciones de individuos de estas especies, de donde se deduce que éstas se trasladan rápidamente al celoma atravesando el epitelio. Este tránsito puede efectuarse evidentemente por cualquier sitio.

El número de gametocitos que se hallan en el celoma representa siempre sólo una pequeña proporción de los individuos que primitivamente llegaron al intestino con la sangre. Evidentemente, sucumben siempre si llegan a una de las células que se encuentran en actividad fagocitaria. Sólo los que logran penetrar en una célula epitelial joven o en cualquier otra de las células que limitan la cavidad intestinal (huevos, células con simbiontes), llegan al celoma en buen estado. De esta circunstancia depende también el que los gametocitos de este grupo de especies estén dispuestos a abandonar los eritrocitos en que se albergan muy pronto después de la absorción por los Acaros y, por lo tanto, a reducir la duración de su estancia en el intestino.

En el celoma espera a los gametocitos otro peligro, debido a los fagocitos que allí se encuentran. No he observado en *Liponyssus* órganos fagocitarios como los de muchos Arácnidos, sino tan sólo células aisladas, escasamente repartidas en toda la cavidad celomática. No se puede distinguir, sin una investigación más profunda, si se trata aquí solamente de células libres, o también además de células fijas, puesto que los fagocitos están colocados frecuentemente sobre la hipodermis o sobre los diversos órganos.

Cuando existen gametocitos en el celoma, se encuentran en numerosas células fagocitarias, como restos difícilmente digeribles de los parásitos, trocitos de cromatina y especialmente los gránulos de volutina que aparecen de color rojo brillante en las

preparaciones teñidas con la hematoxilina de Delafield (lám. II, figura 30). Aun cuando sólo por estos residuos no se puede afirmar que se trate de gametocitos digeridos, demuestra que lo son el hallazgo accidental de parásitos todavía bien reconocibles (lámina II, fig. 29). El resultado de la actividad fagocítica ha de variar mucho, según los casos, pues depende, por una parte, de la actividad de las células y, por otra, del tiempo que los gametocitos necesitan en el celoma, hasta que llegan a instalarse dentro de una célula.

Indudablemente, con estas consideraciones no hemos agotado en modo alguno el número de circunstancias que impiden o limitan el desarrollo de *Karyolysus* en el transmisor; pero estas consideraciones podrán haber demostrado bastante lo poco que decimos cuando, en casos semejantes, damos la explicación de que una cierta proporción de los transmisores es «inmune» a los parásitos. Este modo de comportarse ha sido ya observado varias veces: en los parásitos del paludismo (terciana), SCHAUDINN (1902) no encontró desarrollo más que en la mitad de los mosquitos; en el *Trypanosoma gambiense,* sólo se infecta una porción muy pequeña de las glosinas que han chupado sangre conteniendo tripanosomas. Una investigación detenida de las condiciones determinantes en los causantes de enfermedades podría proporcionar datos de importancia práctica.

Volvamos, pues, a considerar la suerte ulterior de los *K. bicapsulatus* Los gametocitos que han salido, se parecen mucho por su aspecto a los del *K. lacertæ,* de los que sólo difieren por su tamaño un poco menor. Las formas macho y hembra son muy fáciles de distinguir. La forma macho es más delgada y el endosoma del núcleo es notablemente menor. De las de *K. lacertæ* se distinguen especialmente las formas femeninas (macrogametos) por tener pronto su núcleo claramente limitado, lo cual le da aspecto más bien vesicular, y por que la masa de cromatina está rodeada de un espacio claro. Dicha forma del núcleo puede observarse ya en los individuos todavía enquistados (lám. II, fi-

gura 9 y lám. VII, fig. 95). El límite del núcleo queda menos marcado en los parásitos machos (microgametocitos).

Extraña el ver que los individuos que en mayor o menor número se acumulan en las células epiteliales, son casi exclusivamente macrogametos (lám. I, fig. 3, ♀). En cuanto a los microgametocitos, sin duda a consecuencia de su mayor movilidad, suelen ofrecer más eficaz resistencia a la agresión de los pseudópodos o se escapan rápidamente cuando han sido capturados. Las acumulaciones intracelulares aparecen generalmente desde el segundo hasta el cuarto o quinto día después de la succión de la sangre. Los protozoos se encuentran ordinariamente todos reunidos en una gran vacuola (lám. I, fig. 3) y, con menos frecuencia, cuando son poco numerosos, están repartidos en el protoplasma de la célula (lám. I, fig. 4). Durante este tiempo, no se nota en los gametocitos ni modificación ni crecimiento. He descrito para el *K. lacertæ* un crecimiento notable de los individuos sexuados vermiformes, pero creo que dicha opinión tampoco es aplicable a esta última especie. Las formas que he dibujado en las figs. 8-10 de mi trabajo anterior como tales fases de crecimiento, coinciden tan exactamente con los gamecitos del *K. lacazei,* que actualmente estoy persuadido de que en algunos experimentos con ácaros que realicé en Rovigno obtuve infecciones mixtas de ambas especies. Es verdad que nunca encontré el *K. lacazei* en las *Lacerta muralis* que investigué con bastante detenimiento para fijar el desarrollo del *Karyolysus* en las Lagartijas; pero que esta especie aparece allí realmente en la *L. muralis,* aunque evidentemente muy rara vez, queda demostrado por el hecho de que Woodcock se encontró precisamente en presencia de una infección mixta de *lacertæ* y *lacazei* en la Lagartija, que fué objeto de sus investigaciones en Rovigno.

Los gametocitos que han de morir en el Acaro quedan pronto digeridos por las células epiteliales. Cuando hay acumulación en las células, entonces se conservan de ordinario estos parásitos, prosiguiendo después su desarrollo. Pero también de

esta regla encontramos excepciones por las condiciones complejas del Acaro. Puede observarse en algunos ácaros que también en tales acumulaciones los gametocitos empiezan a morir (lám. I, fig. 5). Se encuentran entonces en las partes superficiales de las grandes vacuolas individuos que ofrecen un aspecto evidentemente patológico: forma reducida de cuerpo, protoplasma con vacuolas toscas y cromatina conglomerada. Por otra parte, aparece más o menos hacia el medio de la vacuola, un montón apretado de gametocitos completamente normales. Es difícil afirmar si estos últimos se mueren simplemente más tarde, o si también de este ataque se salvan parte de los protozoos. La frecuente reaparición de figuras iguales podría inclinarnos a creer esto último.

Cuando la actividad digestiva del Acaro ha pasado de su punto máximo y las células epiteliales, que han acumulado en sí grandes masas de parásitos, han sido en general utilizadas a consecuencia de la actividad desarrollada para la digestión de los eritrocitos de los lacértidos, dichas células, completamente rellenas de gránulos de pigmento, pasan a la cavidad del intestino, donde se descomponen, con lo que los gametocitos encerrados recobran su libertad. En los casos en que no se destruye la célula, salen probablemente los gametocitos encerrados por movimiento propio, tan pronto como aparecen condiciones algo más tranquilas en el intestino.

Este es momento en que ha llegado al *Karyolysus bicapsulatus* la ocasión favorable para comenzar su desarrollo en el Acaro.

### 3. Conjugación y formación de los microgametos.

En todas las especies del género *Karyolysus* reaparece la unión uno junto a otro de dos individuos, macho y hembra, formando la fase móvil de conjugación que describí para el *K. lacertæ*. El proceso se presenta más pronto en aquellas especies

que penetran en el celoma del Acaro, puesto que en ellas no existe la influencia retardatriz que la viva actividad de las células intestinales ejerce sobre el desarrollo de los protozoos. Por consiguiente, los gametocitos aislados libres de dichas especies pueden observarse sólo durante muy poco tiempo.

Los gametocitos de este grupo de especies se diferencian de los del «grupo intestinal» por su mayor longitud y, en general, llaman también la atención por la forma más delgada de su cuerpo. La diferencia de longitud es menos sensible en el *K. biretortus* (18-20 μ), muy notable en el *lacazei* (25-32 μ), cuyos gametocitos son los mayores de todos los de las especies por mí observadas y los que pueden reconocerse más fácilmente en las infecciones mixtas. Como he dicho anteriormente, el aspecto de estos gametocitos libres coincide aproximadamente con el de los intraglobulares, sólo que aparecen todavía algo más delgados: en el *biretortus* (lám. II, figs. 16 y 17), las extremidades anterior y posterior están alargadas en forma más puntiaguda; en el *lacazei* (lám. II, figs. 26-28), dicha modificación afecta tan sólo a la extremidad anterior. La punta aguda que vemos presentarse en este caso parece dejar a esta especie particularmente bien armada para penetrar con rapidez a través del epitelio intestinal. Los núcleos de los gametocitos se distinguen en ambas especies por la falta de un límite claro entre ellos y el protoplasma que los envuelve.

En el *biretortus* no se observa, ni en el estado intraglobular ni en el estado libre, ninguna diferencia ostensible entre los sexos, puesto que existen transiciones entre los individuos evidentemente machos (lám. II, fig. 17) y hembras (lám. II, fig. 16). Sólo después de efectuada la conjugación, la comparación entre ambos conjugantes permite notar siempre una diferencia segura entre los sexos. Así, en la figura 18 (lám. II), el macrogameto se distingue del microgametocito por su núcleo algo menos compacto, el endosoma más grande y la mayor abundancia de volutina. Por el contrario, en los gametocitos del *lacazei* puede recono-

cerse muy claramente el dimorfismo sexual (lám. II, figs. 26 y 27 ♀, fig. 28 ♂). La forma mucho más delgada de los machos, la forma alargada correspondiente del núcleo, el endosoma notablemente menor y más pálido, pueden reconocerse también claramente en los gametocitos intraglobulares maduros de la sangre de las lagartijas (lám. II, fig. 24 ♀, fig. 25 ♂).

En el *biretortus*, puede la conjugación tener lugar ya en el intestino del Acaro; quizás ésta sea la regla general. El rápido encuentro de los individuos afines resulta favorecido por la tendencia que tienen los gametocitos que salen, a acumularse en ciertos sitios de la sangre. Estas acumulaciones no pueden compararse con las intracelulares del *bicapsulatus*, puesto que se realizan independientemente de la actividad digestiva del intestino y están siempre libres y a menudo muy distantes de la pared intestinal. El empezar la conjugación en el intestino explica el que se encuentren también frecuentemente fases de desarrollo del *biretortus* en el epitelio intestinal: en estos casos, la fase de conjugación, en su emigración, no llega hasta el celoma, sino que va a instalarse en el fondo del epitelio, en una de las células epiteliales jóvenes. El desarrollo en el intestino ocupa siempre lugar secundario en comparación del que se verifica en el celoma. En el *lacazei* la conjugación no se efectúa nunca antes del paso al celoma.

Las primeras formas conjugadas del *biretortus* pueden encontrarse ya a las doce horas después de la succión de sangre por el Acaro; las del *lacazei*, a las veinticuatro o treinta y seis horas. Al cabo del mismo tiempo se observan ya también, además de conjugaciones libres, otras intracelulares. Las preparaciones de cortes manifiestan que las conjugaciones que se encuentran libres en el celoma son relativamente raras, mientras que frecuentemente se las encuentra dentro de las células todavía sin modificación de la forma alargada. De ahí se deduce que la pareja busca un albergue inmediatamente después de su unión. No existe, pues, un estado móvil de mayor duración, contra

lo que me inclinaba a creer en mi trabajo anterior; pero la forma vermicular de los conjugantes se conserva todavía durante algún tiempo después de la penetración en una célula.

Las células patrones que prefiere el *biretortus* para su desarrollo posterior, son las células traqueales y musculares. En cuanto a estas últimas, los parásitos no penetran en las fibras musculares, sino solamente en la capa superficial de protoplasma no diferenciado. El *biretortus* suele encontrarse además en la hipodermis; rara vez en las células de los tubos de Malpighi y en las glándulas salivares. Una vez lo encontré también en el receptáculo seminal. Por el contrario, nunca pude hallar la fecundación y la consiguiente esporogonía de esta especie en los ovocitos de los ácaros. Insisto sobre este último particular, porque otra especie de *Karyolysus,* de la que trataremos en la segunda parte de este trabajo, ataca de preferencia precisamente los oocitos en el ovario.

El *K. lacazei* elige principalmente como lugar para su desarrollo posterior las células hipodérmicas y, con menos frecuencia, he podido observarlo en las traqueales y musculares.

Parece oportuno intercalar aquí una corta observación sobre el parasitismo celomático de los Coccidios en los Artrópodos en general. En los Insectos conocemos casos en Ortópteros, Lepidópteros y Coleópteros (véase Pérez, 1903; Léger, 1904; Moroff, 1907). Las más veces quedan dichos Coccidios limitados a las células del cuerpo adiposo; sin embargo, Pérez observó en el *Adelea mesnili* de la Polilla *Tineola biseliella* un estado de cosas que recuerda de un modo extraordinario las especies de *Karolysus* antes mencionadas: en casos de infección intensa, los Coccidios atacan también a las células del pericardio, enocitos, células de los vasos de Malpighi, de los músculos y de la hipodermis. Léger ha insistido especialmente sobre el hecho de que todas las especies conocidas hasta entonces como parásitos del celoma de los Insectos pertenecen al género *Adelea:* para nosotros es especialmente interesante que este último es precisa-

mente uno de los géneros que tiene parentesco más próximo con el género *Karyolysus*. Además de los referidos parásitos celomáticos, el género *Adelea* comprende también especies, como la *A. ovata* de *Lithobius,* que son exclusivamente parásitas del epitelio intestinal, por lo cual dicho género coincide también en este punto con *Karyolysus*.

Hecha de paso la observación anterior, examinemos ahora los procesos de conjugación en el *K. bicapsulatus*. Podría suponerse que las acumulaciones intracelulares que hemos observado en esta especie en el epitelio del intestino del Acaro ofrecieran ocasión favorable para el encuentro de los individuos macho y hembra. Sin embargo, no se observan sino rara vez formas de conjugación en estas acumulaciones de gametocitos, y aún existe la duda de si los parásitos no han sido apresados ya en estado conjugado por las células fogocíticas. Alguna que otra vez se presentan ya conjugaciones en el contenido intestinal durante el período de actividad intensa de la digestión del Acaro. Pueden observarse ya estas fases desde el segundo día después dé la succión de la sangre, aunque por regla general la conjugación suele comenzar cuando, al mismo tiempo que disminuye la actividad fagocitaria en el intestino, quedan eliminadas las células epiteliales utilizadas, yendo a descomponerse en el interior del intestino y poniendo, por lo tanto, en libertad los gametocitos que encierran. A este estado se llega hacia el cuarto o quinto día después de la succión.

Las preparaciones de cortes presentan entonces los gametocitos esparcidos por toda la papilla alimenticia, apareciendo entre ellos parejas conjugadas. Llama también la atención en esta especie — así como en las tratadas anteriormente — el ver que las conjugaciones libres son menos abundantes en relación con las que han pasado ya a la vida intracelular. Estas últimas se observan más a menudo muy en el fondo del epitelio, cerca de la base, puesto que eligen de ordinario como células patrones las células epiteliales muy jóvenes y pequeñas, por lo menos

aquellas aún no dotadas de actividad fagocítica (lám. I, figuras 1 y 7). No he seguido en vivo el proceso de penetración de las parejas en conjugación; pero parece que cada uno de los conjugantes es activo por sí sólo de la manera conocida y descrita por vez primera por Schaudinn (1900), pues con frecuencia se encuentran imágenes que indican que una pareja que acaba de penetrar puede de paso separarse (lám. 1, fig. 1).

La elección de células epiteliales jóvenes por los conjugantes es de gran importancia para el desarrollo posterior, pues éste debe terminar en la célula epitelial antes de que, consumida por su actividad fagocítica, sea eliminada y pase, en el próximo acto de succión del ácaro o antes, a la vejiga rectal. Si los oocistos de *Karyolysus* llegan a la vejiga rectal, ya no prosigue en ésta su desarrollo, sino que se mueren. Por el contrario, en algunos casos he encontrado el intestino final relleno de fases de fecundación y de fases posteriores, que se desarrollaban allí extracelularmente de un modo evidentemente normal; lo cual puede explicarse por el hecho de que muchas células epiteliales eliminadas no se descomponen en el interior del intestino, sino solamente en la vejiga rectal y, suponiendo además, que los gametocitos, que a consecuencia de ello han recobrado su libertad, regresán al intestino final. No se les encuentra nunca en el epitelio del intestino final, en el que evidentemente no pueden penetrar. Cuando la acumulación de los gametocitos en el intestino final es tan grande que obstruyen su luz, llegando por ello a establecerse sólidamente en aquél, entonces la fecundación y el desarrollo posterior se efectúan también extracelularmente.

He señalado ya para el *K. lacertæ*, que en ocasiones se encuentran fases de conjugación en los cuales se ve unido un parásito hembra con dos machos (fig. 5 del trabajo ya referido). He encontrado dichas formas con bastante frecuencia en el *bicapsulatus*. También aparecen en este último, pero con menos frecuencia, conjugaciones con tres, y hasta accidentalmente con

cuatro, microgametocitos. La imagen reproducida en la figura 10 (lám. II), encontrada libre y aislada en el contenido intestinal, en una preparación de cortes, demuestra que se trata realmente de conjugaciones y no de acumulaciones casuales. De conformidad con estas imágenes se encuentra también con frecuencia intracelularmente, un macrogameto rodeado de varios microgametocitos, los cuales llegan todos a madurez y formación de microgametos. A consecuencia de ello, resulta que existe para la fecundación una elección entre numerosos microgametos, por lo cual, en esos casos, hay en cierto modo una compensación del corto número de microgametos que produce cada microgametocito.

En efecto, el hecho particular que he observado en *K. lacertæ,* de que el núcleo del microgametocito no se divide más que una vez y que de este modo sólo se producen dos microgametos, se encuentra asimismo en todos los representantes del género *Karyolysus.* En general, las modificaciones consiguientes a la conjugación son tan semejantes y coinciden tan por completo con lo descrito de *K. lacertæ,* que podemos prescindir de extendernos sobre el particular, dedicándoles pocas palabras. Alrededor de la pareja en conjugación que ha penetrado en la célula se forma siempre una delicada envoltura (lám. II, fig. 31, *lacazei),* de modo que desde entonces parece situada en una vacuola. La pareja empieza entonces a acortar y ensancharse, y al mismo tiempo crece ya algo el macrogameto (lám. II, fig. 19, *biretortus).* En este acortamiento puede adelantarse, ya el conjugante macho, ya el conjugante hembra; no hay para ello ninguna regla ni diferencia entre las especies. El núcleo del macrogameto se vuelve mayor, esférico y vesicular, separándose ahora claramente del citoplasma en las especies en que antes no lo estaba. La imagen que presentan los conjugantes del *lacazei,* que han tomado una forma esférica, coincide completamente con la representada en la figura 7 de mi trabajo anterior: erróneamente la atribuí entonces también al *lacertæ.*

Habiendo tomado el macrogameto una forma esférica, su núcleo se traslada junto a la superficie; el individuo se encuentra desde luego maduro para la fecundación. Vuelto esférico el microgametocito, su núcleo se divide. Las imágenes que en esta fase he observado, corresponden en todas las especies a las de *lacertæ* (véanse las figs. 11-14 y 25 del trabajo citado). No se puede determinar el número de las unidades de cromatina; pero véanse, sin embargo, en el capítulo sobre «Infección crónica y recidivas» del presente trabajo, las divisiones nucleares en microgametocitos que se efectúan en la sangre de las lagartijas. Cuando ambos núcleos hijos se trasladan hacia la superficie, el endosoma del núcleo primitivo queda situado en el medio, como ocurre en *lacertæ,* pudiendo comprobarse su presencia en el residuo todavía durante bastante tiempo (lám. II, figs. 11 y 21*b*).

Hemos de estudiar algo más detenidamente la estructura de los microgametos maduros. Mientras que antes no me había sido posible encontrar flagelos en el microgameto de *K. lacertæ,* he podido ahora comprobar en todas las especies de *Karyolysus* que he investigado más detalladamente la presencia de dos flagelos. La forma del cuerpo de los microgametos es bastante gruesa (lám. II, figs. 13 y 22*a*), como es el caso habitual en los Coccidios del tipo *Adelea,* mientras suele ser delgada en los Eimerídeos. Puede explicarse esta diferencia por el hecho de que en estos últimos los microgametos tienen mucho camino que recorrer y obstáculos que vencer (células del patrón) para llegar a encontrar un macrogameto.

Los microgametos de *Karyolysus* tienen su extremidad anterior anchamente redondeada y la posterior puntiaguda; nunca he podido observar una punta en la extremidad anterior que ha sido descrita como rostro en otras especies. Visto de perfil (lám. II, fig. 22.*a, biretortus)* se presenta en el gameto una pronunciada curvatura sólo en una dirección (¿lado dorsal?), mientras que el lado opuesto (¿lado ventral?) es aplanado, apareciendo cóncavo por la posición generalmente encorvada del gameto.

En la vista de perfil se nota también en la masa homogénea de cromatina, una formación clara, ovalada, aproximada a la superficie ventral, con aspecto de vacuola. Semejante formación en situación absolutamente igual, fué descrita por vez primera por Léger (1898) en *Echinospora*. Schaudinn (1900), que la observó también en *Eimeria schubergi*, la consideró como un resto de protoplasma.

El tamaño de los microgametos no varía sino de un modo insignificante en las diferentes especies de *Karyolysus*. En el individuo de *bicapsulatus* representado en la fig. 13 (lám. II), la longitud de la parte cromática alcanza 3 μ; la anchura 1,3 μ; los flagelos tienen unas 4 μ de longitud.

La presencia de los flagelos puede sólo comprobarse en una pequeña parte de los gametos. Con mayor frecuencia se observa el flagelo posterior apareciendo como una prolongación de la extremidad posterior puntiaguda del cuerpo (lám. II, figs. 13 y 22 *a*). El flagelo aparece visiblemente engrosado en la base. Dicha parte no debe probablemente considerarse aún como perteneciente al flagelo, sino que representa la extremidad protoplasmática y libre de cromatina del cuerpo. Sólo pocas veces pude ver el flagelo anterior y, en estos casos, iba siempre dirigido hacia adelante (lám. II, figs. 13 y 20). Hay que admitir que dicho flagelo se extiende normalmente también hacia atrás, como en otros Coccidios; resultando su comprobación más fácil sólo cuando, por el hecho de adherirse a algún obstáculo, se presenta dirigido hacia adelante, pues de lo contrario queda fácilmente pegado al cuerpo. En muchos Coccidios ambos flagelos nacen libres en la extremidad anterior. Lo mismo sucede en las dos únicas especies del tipo *Adelea*, en las cuales se ha comprobado hasta ahora la presencia de flagelos: en *Orcheobius herpobdellæ* (Kunze, 1907) y *Klossia vitrina* (Moroff, 1911). En otras especies de Coccidios, por el contrario, uno de los dos flagelos del microgameto está más o menos adherido a la superficie del cuerpo; en *E. schubergi*, por ejemplo, este flagelo sólo aparece libre en la

extremidad del cuerpo (véase SCHAUDINNs *Arbeiten,* pág. 333). Estas circunstancias permiten deducir que también en los microgametos de *Karyolysus* el flagelo posterior se extiende a lo largo de la superficie del cuerpo hasta la extremidad anterior, para surgir en este punto junto con el otro flagelo.

Es muy poco probable que en el mismo género haya especies con microgametos provistos de flagelos, mientras otras tengan microgametos que, a pesar de ser completamente análogos por su forma a aquéllos, carezcan de flagelos. Por esta razón supongo que deben existir también en el *K. lacertæ,* aunque no los he observado. También en la mayor parte de los otros Adeleídeos debe poderse comprobar probablemente la presencia de flagelos en los microgametos. Mientras los gametos flagelados no se conocían más que en *Orcheobius herpobdellæ,* especie de tamaño muy grande, se podía suponer que el corto camino que los microgametos tienen que recorrer en los Adeleídeos hasta llegar al polo de fecundación del macrogameto hacía en ellos supérflua, en general, la presencia de flagelos. Pero los macrogametos de *Karyolysus* en la fase de fecundación pertenecen a los más pequeños conocidos hasta ahora en los Adeleídeos, por lo cual, la existencia de flagelos en los microgametos de los representantes de este género destruye la hipótesis anterior.

Sólo en *Hæmogregarina stepanowi* (REICHENOW, 1910), que también posee macrogametos muy pequeños para ser Adeleídeo, hay que señalar una transformación regresiva profunda de los elementos masculinos. Aquí, evidentemente, no se llega a la formación de microgametos dotados de movimiento; nunca pueden observarse las características formas delgadas, homogéneocromáticas de los demás Coccidios. Las imágenes de la fecundación (véanse las figs. 34 y 35 del referido trabajo) dan a entender que en esta especie se efectúa sencillamente una emigración de uno de los cuatro núcleos del microgametocito al macrogameto. Los otros tres núcleos que no llegan a la fecundación quedan

— al contrario a lo que se observa en otros Adeleídeos — permanentemente en conexión con el residuo del microgametocito.

El hecho de que resulte tan difícil comprobar la existencia de los flagelos de los gametos en los Adeleídeos se explica fácilmente por la circunstancia de que dichos microgametos tienen, sin duda, una vida mucho más corta que los de los Eimerídeos. No emprenden ninguna migración, como los últimos y, cuando el macrogameto al lado del cual se han desarrollado está ya fecundado, no tienen ya objeto alguno para la vida. Tampoco he tenido la suerte de ver microgametos móviles en las preparaciones en vivo de *Karyolysus,* mientras que esta observación resulta fácil en infecciones intensas de Eimerídeos.

### 4. Fenómenos de fecundación y división reductora.

Para el estudio de los fenómenos sexuales he encontrado en las varias especies de *Karyolysus* un material especialmente favorable. Sus ventajas consisten desde luego en la facilidad de fijar los oocistos, por ser su membrana sumamente delicada, lo que está en relación con el hecho de que, en las especies en cuestión, estas fases no salen nunca al exterior. Además, la circunstancia de que la gran mayoría de los individuos parásitos en un ácaro se encuentren en una misma fase de desarrollo, permite establecer con seguridad — mediante la conservación, hecha en momentos determinados, de ácaros de una serie de ensayos — la sucesión de las imágenes observadas, lo cual resulta notoriamente imposible en los Coccidios que no cambian de patrón. Finalmente, las particularidades citológicas son de tal índole en *Karyolysus* que proporcionan buenas explicaciones precisamente acerca las primeras fases de fecundación.

Debido a esto ha sido posible, no sólo completar notablemente

la exposición, hasta ahora la más completa en los procesos de fecundación en los Coccidios, que SCHELLACK y yo (1915) dimos de *Adelea ovata,* sino también y sobre todo, aclarar la significación teórica que tienen en la fecundación los procesos peculiares que descuellan en la formación del enigmático «huso de fecundación». Con ello han resultado concordancias, hasta en los detalles, con los fenómenos que aparecen en las células sexuales en maduración de los Metazoos y Metafitos, así como relaciones con los fenómenos en otros Protozoos. A consecuencia de éstos se hace necesaria una exposición comparativa tan detallada que sale por completo del tema del presente trabajo, por lo cual me veo obligado a darla en una comunicación especial. Me limitaré aquí, por lo tanto, a una breve indicación de los puntos de vista teóricos y a la descripción de los fenómenos en las especies de *Karyolysus,* no más detallada de lo que parece necesario para la integridad de la historia del desarrollo de estas especies. Partiendo de la misma base, en este capítulo citaré sólo en cuanto sea indispensable las observaciones hechas en otros Coccidios.

No hay reducción de cromatina ni durante la formación de los gametocitos, ni en éstos antes de la fecundación: la primera división de la esporogonía representa más bien una división reductora. Con ello se comprueban en *Karyolysus* los descubrimientos de DOBELL y JAMESON (1915) en *Aggregata.* El microgameto que penetró en el macrogameto se transforma de tal manera que va formando un núcleo morfológicamente idéntico al femenino, exactamente como se observa en los fenómenos de fecundación de los seres pluricelulares. Pero, mientras que en estos últimos este estado diploideo del núcleo es en general duradero y sólo en las generaciones de células que conducen a la formación de las células sexuales queda suprimido más o menos inmediatamente antes de una nueva unión de núcleos, en los Coccidios persiste el estado de doble núcleo tan sólo hasta la primera división del núcleo en el nuevo organismo producto

de la fecundación. Antes de principiar esta división, los núcleos macho y hembra forman largos cromosomas filamentosos que se sitúan más o menos paralelamente, uniéndose así por pares. Esta fase de conjugación de cromosomas, que constituye el verdadero acto de fecundación, no es otra cosa que «el huso de fecundación» de los Coccidios. Los pares de cromosomas se acumulan, después entrelazados, en un polo del espacio fusiforme del doble núcleo, formando así un ovillo que corresponde completamente a la fase de sinapsis en las células sexuales de los Metazoos y Metafitos. Los dobles cromosomas se vuelven más cortos y gruesos y, en la primera división inmediata del núcleo, los cromosomas de cada par se separan uno de otro, emigrando hacia lados opuestos.

Es evidente que este estado de cosas en los Coccidios constituye un sólido punto de apoyo para la opinión que ve en la *síndesis* de las células sexuales de los seres pluricelulares, una conjugación de cromosomas padre y madre, y en esto mismo estriba la gran importancia de los referidos procesos para la teoría de la fecundación. Hemos de considerar como primitivo el estado en el cual los portadores de la herencia de doble procedencia entran en relación uno con otro inmediatamente después de la unión de las dos células, para luego separarse definitivamente. El permanecer ambos componentes uno junto a otro, cada cual con sus diferencias individuales, proporciona un medio para el perfeccionamiento de la organización, pues por ello se origina una variabilidad mucho mayor en todas las manifestaciones de la vida. Conviene notar que esta diferencia se observa ya dentro de los Protozoos. En los de más elevada organización, los Infusorios, el núcleo padre (núcleo emigrante) y el núcleo madre (núcleo sedentario) persisten reunidos sin separación morfológica, y sólo inmediatamente antes de un nuevo acto sexual (conjugación de Infusorios) es cuando tiene lugar la conjugación de cromosomas padre y madre (fase falciforme del núcleo) y la reducción de cromosomas. Como indiqué

anteriormente, insistiré en otro lugar sobre todos estos puntos.

Pasemos, pues, a examinar más a fondo las particularidades que ofrecen los fenómenos de fecundación en *Karyolysus*. Por el punto donde el núcleo del macrogameto se encuentra en contacto con la superficie de la célula, penetra un microgameto en el espacio vesicular limitado por la membrana nuclear. En el *bicapsulatus* he hallado una imagen que representa un microgameto a medio penetrar (lám. II, fig. 11). Este parece como cortado por la membrana nuclear y claramente dividido en dos partes: una intranuclear y otra extranuclear. Esta imagen permite deducir que la cromatina atraviesa la membrana gránulo a gránulo. La parte intranuclear está ya disociada y aparece como una acumulación muy compacta de pedacitos de cromatina. He representado ya en mi trabajo anterior (véase en él la fig. 15) una fase con un microgameto que ha penetrado por completo. Como el límite del núcleo del macrogameto no aparece claramente en la figura, no se puede reconocer en ella la situación intranuclear del microgameto. Una imagen más clara de la misma clase en *bicapsulatus* está representada en la figura 12 (lámina II). En esta figura la cromatina masculina está formando un casquete debajo de la membrana nuclear y se distingue perfectamente del contenido femenino del núcleo. El microgameto —o el núcleo del microgameto— no penetra, pues, en la *substancia* nuclear, sino solamente en el *espacio* nuclear del macrogameto, va empujando el contenido de tal manera que los núcleos macho y hembra acaban por encontrarse el uno al lado del otro dentro de la misma membrana nuclear.

Inmediatamente después de la penetración del microgameto empieza la zigota a crecer rápida y notablemente. Al crecimiento del cuerpo celular acompaña también el de la vesícula nuclear. Este aumento de tamaño favorece principalmente al núcleo masculino, cuyo armazón cromatínico se esponja hasta igualar en dimensión y estructura al núcleo femenino (figura G *a-c*). Al mismo tiempo se forma un nuevo endosoma en el

núcleo masculino. Una figura de *lacazei* (fig. G*a*) (1), representa mejor la fase inicial de esta formación, debido al mayor

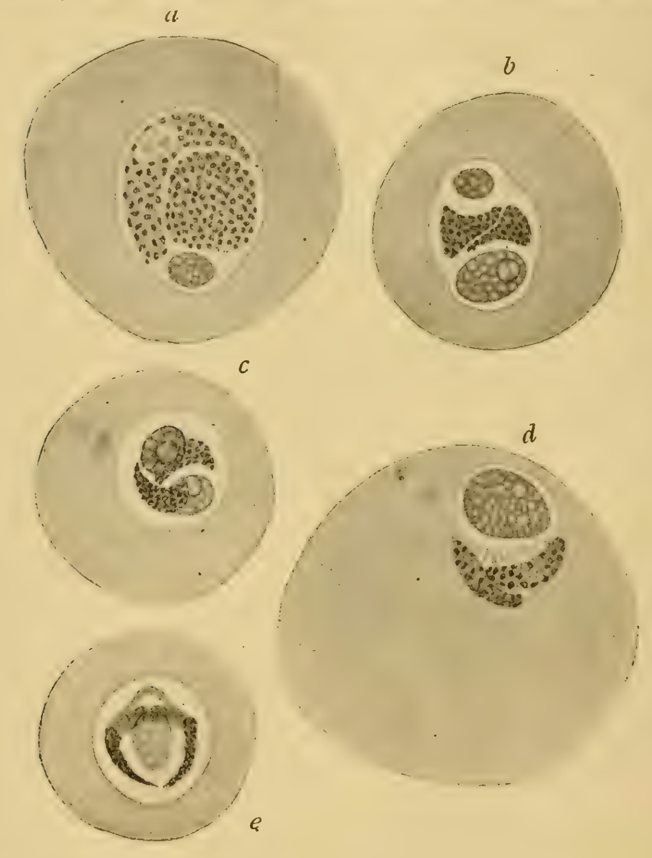



Figura G.
Fases siguientes a la fecundación: *a*, de *Karyolysus lacazei*; *b-e*, de *Karyolysus bicapsulatus*. × 1800.

tamaño de esta especie. Se ve en ella que pequeñas «gotitas nucleolares» se reúnen en una vacuola, para confluir después seguramente formando un solo endosoma.

---

(1) Esta figura y todas las siguientes (excepto la K) sobre los fenómenos de fecundación no son esquemáticas, aun cuando sólo el núcleo esté representado con detalles: del cuerpo protoplasmático se indica solamente el tamaño. El aumento es el mismo que el de las figuras de las láminas.

Al principio el nuevo endosoma masculino es notablemente menor que el femenino (fig. G*b*), pero crece rápidamente hasta hacerse por completo igual al femenino, el cual también ha aumentado notablemente de volumen desde el momento de la fecundación. Puesto que en *bicapsulatus* muchas veces se pueden distinguir claramente también los dos armazones cromatínicos, se nos presenta una imagen con dos núcleos idénticamente organizados dentro de la misma membrana celular (fig. G*c*); ya no se puede determinar cuál es el núcleo masculino y cuál el femenino. Los dos endosomas idénticos se unen finalmente entre sí de tal modo, que el núcleo del oocisto no posee ya mas que un sólo endosoma de volumen muy notable junto al cual están situados ambos armazones nucleares, formando como dos casquetes (figura G*d*). Reproducimos en la figura 14 (lám. II) una imagen que muestra precisamente el fenómeno de fusión de ambos endosomas. Estas fases, aun poseyendo material abundante, se observan muy raras veces, pues se comprende fácilmente que el fenómeno referido se efectúa en muy poco tiempo.

He descrito ya en *K. lacertæ* (véanse en el trabajo citado las figs. 16 y 17) la formación de un endosoma masculino y su crecimiento hasta alcanzar el tamaño del femenino. También ví entonces la fase con un solo endosoma grande (fig. 1 del texto en el referido trabajo), por lo cual conjeturé la fusión de ambos endosomas. No he podido distinguir cromatina masculina y femenina en *lacertæ*. La separación entre ambas masas de cromatina se señala de modo muy diferente en cada una de las especies; en el *biretortus*, por ejemplo, sólo puede ser comprobada en las fases más precoces (véase lám. II, fig. 20). También en *bicapsulatus* resulta a veces difícil separarlas en los numerosos casos en que ambos armazones cromatínicos se encuentran muy apretados uno contra otro (fig. G*b*).

La fusión de dos endosomas en el núcleo de la zigota ha sido también descrita, entre tanto, por Reich (1913) en un Coccidio tan alejado de *Karyolysus* como es *Eimeria stiedæ*. El autor co-

loca, por cierto, esta figura detrás de la fase de huso de fecundación. Sin embargo, la circunstancia de que aquella fase se puede teñir contra lo que ocurre con la fase de huso, me parece más bien indicar que debe colocarse antes de ésta, pues la facultad de teñirse el contenido del quiste disminuye a medida que se va consolidando su envoltura. Por estas razones, en la fusión de los endosomas en *E. stiedæ* se debe tratar evidentemente de un proceso de igual significación que en *Karyolysus*.

*K. bicapsulatus* — lo mismo que *lacertæ* — permanece bastante tiempo (quizás de doce a veinticuatro horas) en la fase con dos endosomas iguales, mientras que el crecimiento del endosoma masculino se ha efectuado antes manifiestamente de un modo muy rápido. Se encuentran muchas más imágenes con dos endosomas iguales que con dos de tamaño diferente. Por el contrario, en el *biretortus,* aunque he estudiado infecciones intensas también en esta especie, no he encontrado ninguna fase con dos endosomas iguales y, sólo muy rara vez, fases con endosomas de tamaños diferentes (lám. II, fig. 20). En las mismas preparaciones que contienen fases inmediatamente anteriores a la fecundación y fases del acto mismo de la fecundación, se presentan siempre ya las fases con un solo endosoma grande (lámina II, fig. 21). En esta especie, cuyo desarrollo en el Acaro se distingue en general por su rapidez sorprendente — insistiré todavía sobre este particular —, la organización del núcleo masculino se realiza también con extrema rapidez. Quizás la fusión del endosoma macho con el endosoma hembra se verifique antes de que aquél haya alcanzado por completo el tamaño de este último.

Las especies de *Karyolysus* pueden permanecer muchos días en la fase a que han llegado por la fusión de ambos endosomas. Esto ocurre sobre todo a temperaturas bajas, es decir, que excedan poco de 20° C., y sólo durante poco tiempo cada día. Los procesos siguientes de conjugación de cromosomas parecen necesitar más que otros temperatura elevada (25-30°). Durante este tiempo viene a terminar provisionalmente el crecimiento

intenso del cuerpo de la célula que principió con el acto de la fecundación; y hasta el comienzo de la esporogonía no empieza un nuevo crecimiento. Los oocistos han alcanzado ahora un diámetro de 18-25 μ; el tamaño viene a ser bastante igual para todas las especies, a pesar del diferente tamaño primitivo de los gametocitos. Los oocistos de *bicapsulatus* tienen en rigor su diámetro menor que los del *lacazei,* especie que acompaña frecuentemente a aquélla; pero el límite superior de tamaño de la primera especie sobrepasa al límite inferior de la segunda. La forma es esférica o muy ligeramente ovalada, las frecuentes desviaciones de esta forma son siempre consecuencia de posiciones violentas ocasionadas por las relaciones histológicas del Acaro, o por la influencia recíproca de varios parásitos que se desarrollan en la misma célula patrón.

Mientras que en *biretortus* en la fase con un endosoma aparece pronto la totalidad de la cromatina distribuída de un modo bastante igual por todo el núcleo (lám. II, figs. 21 y 22), en el *bicapsulatus* pueden verse todavía durante bastante tiempo los dos casquetes de cromatina situados el uno cerca del otro. Después ocurren en ellas notables modificaciones. Se ponen en contacto uno con otro por un extremo, se alargan, envuelven, formando una corona al endosoma y se juntan también por el otro extremo. Como en esta corona aparecen además ángulos, engrosamientos de ciertas partes y hendiduras, resulta una formación bastante complicada, por lo cual su forma simétrica, que prueba separación existente todavía de las cromatinas masculina y femenina, no puede reconocerse sino gracias a una posición favorable del oocisto.

Una imagen que se presenta con frecuencia y que, por tanto, no puede considerarse como accidental, es la siguiente (fig. G *e*): dos ramas salen ensanchándose, divergen en forma de curva y abrazan por dos lados al endosoma, formando en conjunto un semicírculo. De los extremos de dichas ramas salen otras dos que al principio aparecen algo perpendiculares con las anterio-

res, y que se doblan después debajo del endosoma hasta ponerse en contacto. Al lado de estas últimas salen otras dos apenas separables en su base de ellas, describiendo un camino análogo y uniéndose igualmente delante de las mismas formando un arco mayor. Evidentemente, en estas formaciones están presentes y ya separadas, aunque en estado suelto, las unidades cromáticas de ambos núcleos. Estas figuras particulares deben facilitar a los correspondientes elementos de origen masculino y femenino el tomar ciertas posiciones paralelas, con lo cual, más tarde, después de la formación de los cromosomas filamentosos, queda facilitada la unión de los pares correspondientes.

Antes de que en el oocisto se empiece a formar el llamado huso de fecundación, la figura cromática del núcleo se vuelve irregular y se descompone. Los gránulos de cromatina se esparcen por todo el núcleo, volviéndose cada vez menores. Por lo cual resulta un núcleo en apariencia desprovisto casi por completo de cromatina, en el que, debido a ello, se descubre muy marcadamente la estructura alveolar. Sólo con un teñido intenso pueden reconocerse en los ángulos de los alvéolos gránulos débilmente teñidos y de diferente tamaño (lám. II, fig. 15); evidentemente la cromatina está ahora repartida de modo finísimo por todas las paredes alveolares. Queda indeciso si la pobreza del núcleo en cromatina debe atribuirse solamente a esta fina repartición, o si es también debida a una disminución en su facultad de teñirse.

A juzgar por la elevada proporción en que aparecen estas figuras, permanece el núcleo en dicha fase durante algunas horas. Después empiezan a repartirse por el núcleo numerosos y diminutos nucleolos de diferente tamaño. Estos nucleolos se forman, como lo demuestran sin la menor duda las imágenes que se observan en los núcleos, por salida del gran endosoma. En la fase inicial, es decir, cuando en el espacio nuclear no hay todavía nucleolos repartidos, o sólo un corto número de ellos, se observan frecuentemente en la superficie del gran endosoma

uno, dos o tres nucleolos sentados como yemas (fig. H*a*) (1). Una vez formados los nucleolos, aparece de nuevo más visible la substancia cromática nuclear. Se ven aparecer gránulos de cromatina, ordenados al principio en cortas series en las paredes alveolares. Los extremos de estas series se encuentran a menudo en conexión con los pequeños nucleolos (fig. H*b*). En el transcurso de estos procesos, el núcleo se vuelve fusiforme, con un polo bastante agudo y el otro algo obtuso, y con saliente en un lado que contiene el endosoma desviado hacia él. Cuando este saliente no puede observarse, débese a que está vuelto hacia arriba o hacia abajo. Las series de gránulos de cromatina se hacen más largas y se vuelven homogéneas y filiformes, mientras disminuye el número de nucleolos y que la estructura alveolar del núcleo va perdiendo en claridad (fig. H*c*). Finalmente encontramos en el núcleo los cromosomas filiformes, sobre cuyo número nada fijo puede decirse aún, ordenados más o menos paralelamente (fig. H*d*).

Mientras que en la fase de los nucleolos no se observan diferencias esenciales entre las especies aquí referidas, puede observarse la formación claramente separada de los cromosomas filiformes en *lacazei* y *biretortus* únicamente, mientras que en *bicapsulatus* y otras especies (como podrá verse en la segunda parte de este trabajo) la organización de la cromatina se verifica más en una masa (fig. I), no pudiendo reconocerse la estructura filiforme hasta que ésta se alarga.

También por el modo de conducirse los pequeños nucleolos durante la formación de la figura de huso, difieren las especies. En *lacazei*, los nucleolos se reúnen fusionándose unos con otros de modo que, al fin, solamente se advierte la presencia de un

(1) Esta figura se refiere a una especie de *Karyolysus* que coincide citológicamente casi por completo con *bicapsulatus*, pero que manifiesta en diferentes fases de la esporogonía imágenes mayores y más claras, por lo cual tendremos que mencionarla aquí varias veces. La describiré bajo el nombre de *K. zuluetai* en la segunda parte.

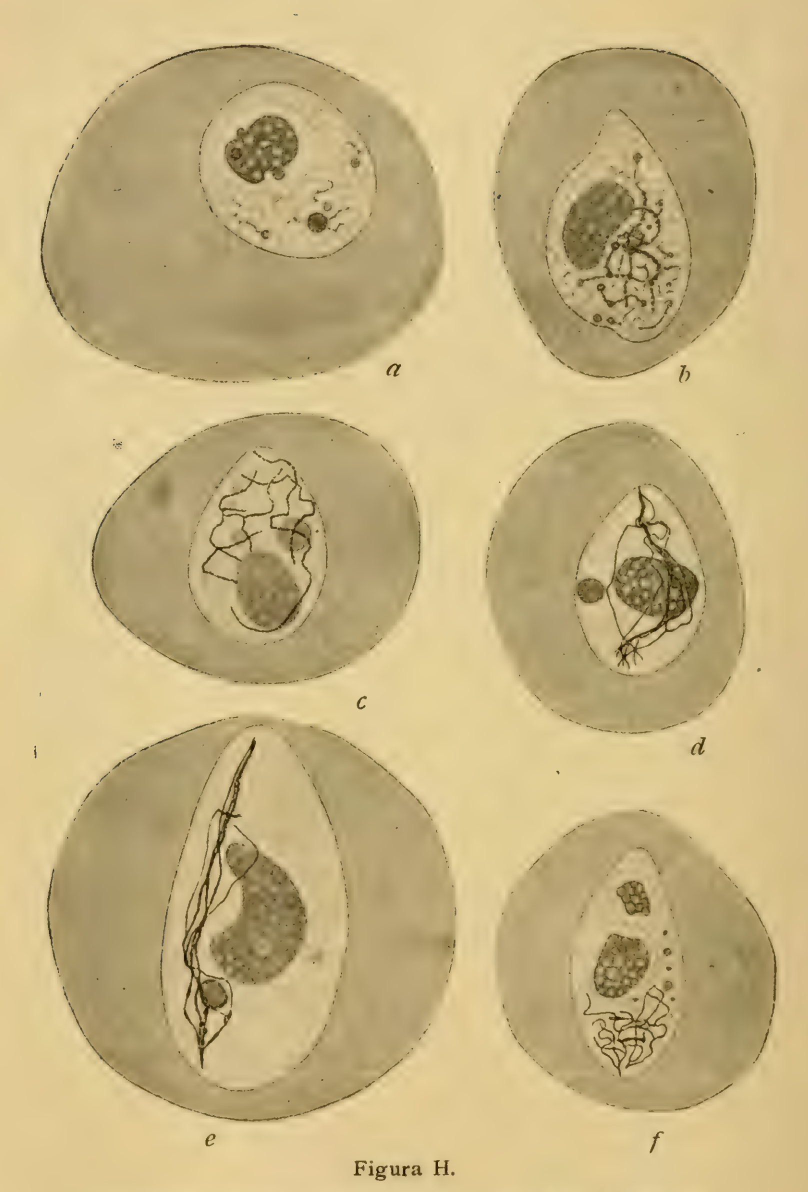



Figura H.

Fases que preceden a la división reductora: *a*, de *Karyolysus zuluetai*; *b-f*, de *Karyolysus lacazei*. ×1800.

sólo nucleolo bastante grande (fig. H*d-e*). En otras especies se nota sólo una disminución del número de nucleolos, hasta su desaparición completa (fig. I y lám. II, fig. 23*n*). Quizá en estos casos regresen los nucleolos poco a poco al gran endosoma, de donde habían salido.

En una fase posterior del «huso de fecundación» aparece disminuido el número de filamentos de cromatina, de donde podemos deducir la unión de los hilos dos a dos formando parejas. En la figura H*e*, se distinguen claramente cuatro hilos en el polo nuclear obtuso, uno de los cuales muestra todavía una separación en casi toda su longitud, dejando así reconocer fácilmente la duplicidad de los hilos. El número de cuatro cromosomas se volverá a encontrar todavía varias veces en el curso de esta exposición; pero hasta el final de esta primera parte no podré discutir en conjunto el problema de los cromosomas en los Coccidios.

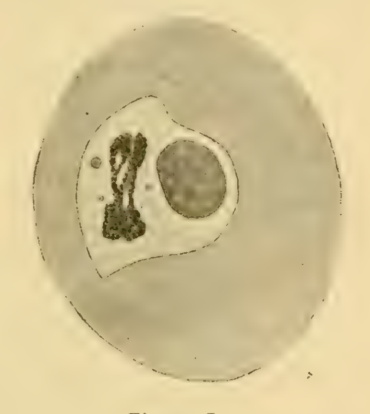


Figura I.
«Huso de fecundación» de *Karyolysus bicapsulatus*. × 1800.

Imágenes tan claras como la reproducida en la figura H*e*, son raras; de ordinario los hilos se acercan tanto unos a otros que resulta como una varita. En *biretortus* se presenta esta forma más compacta (lám. II, figura 23).

El desarrollo posterior se efectúa de tal modo que los hilos se dirigen hacia el polo obtuso del núcleo, por lo que su forma estirada se va cambiando en sinuosa y así se forma en dicho polo un ovillo apretado, inextricable (fig. H*f*). La unión estrecha de los pares de cromosomas parece entonces relajarse un poco; por lo menos se pueden observar a menudo hilos que van paralelos en un cierto trayecto.

Los filamentos se vuelven después más gruesos y más cortos, hasta que quedan transformados en cromosomas cortos, gruesos, típicos (fig. J*a*) que considero — como explicaré en seguida — como cromosomas dobles. Estos cromosomas dobles no permanecen mucho tiempo invariables: muy pronto empiezan ambos componentes a separarse (fig. J*b* y lám. III, fig. 36). Esta circunstancia, así como el ser de diferente tamaño todos los pares de cromosomas y estar a menudo en contacto y cruzándose, hacen

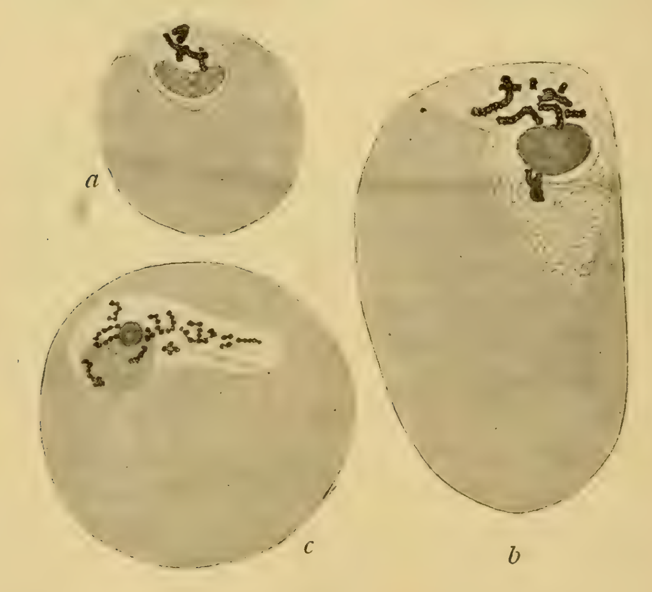



Figura J.
División reductora: *a*, de *Karyolysus bicapsulatus*; *b* y *c*, de *Karyolysus lacazei*. × 1800.

muy difícil el poder fijar su número. Hay que agregar a ello que no aparecen limitados con precisión, pues están formados de pedacitos de cromatina apretadamente dispuestos.

Estos cromosomas que encontré también en *K. lacertæ* (véase las figs. 3 y 4 del texto del mencionado trabajo) han sido ya descritos varias veces, primero por Schuberg y Kunze (1906) en *Orcheobius herpobdellæ*, más tarde por Moroff (1911) en *Klossia*

*vitrina,* por SCHELLACK y por mí (1915) en *Adelea ovata,* y por DOBELL y JAMESON (1915) en *Aggregata eberthi,* la cual pertenece a los Coccidios, según ha demostrada definitivamente DOBELL (1914). Sólo en esta última especie ha podido fijarse con seguridad el número de cromosomas, que en este caso es seis.

En *Karyolysus,* al comparar numerosas imágenes con cromosomas — sobre todo aquellas en las que evidentemente no se ha producido todavía separación de los de cada par, o en las que todavía pueden reconocerse los cromosomas correspondientes por su situación — he podido comprobar con seguridad

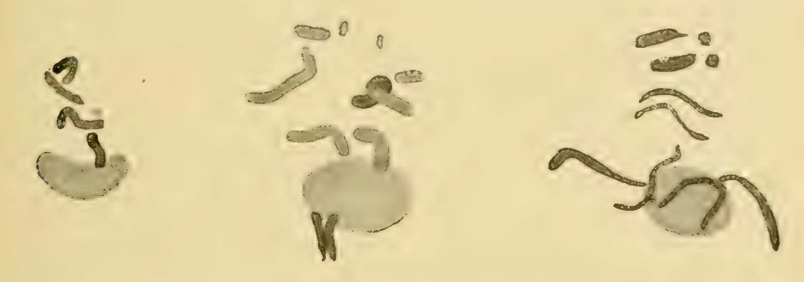


Figura K.

Representación esquemática de los cromosomas en las figuras J*a* *(K. bicapsulatus)*; J*b* *(K. lacazei),* y 36 de la lámina III (*K. biretortus*). × 2500.

la existencia de cuatro cromosomas dobles, o pares de cromosomas, relativamente grandes. Además, en la mayor parte de los casos, he observado también otra formación bastante pequeña, que probablemente podríamos considerar como un quinto cromosoma.

En la figura K, he aclarado las relaciones entre los cromosomas representados en las figuras J*a-b* y en la figura 36 de la lámina III, dibujando unos al lado de otros los elementos aislados, que en la imagen se cubren. Aunque por ello estas figuras representan solamente interpretaciones subjetivas, hay que tener presente, sin embargo, que las imágenes microscópicas dan esencialmente informes mejores que los que se deducen de las figuras J*a-b*, puesto que, mediante el tornillo

micrométrico, pueden seguirse en muchos casos con bastante seguridad los cromosomas que se entrecruzan.

No se puede insistir en que el número total de cromosomas en *Karyolysus* sea seguramente de cinco. No es imposible que aquí existan exactamente las mismas relaciones de cromosomas que DOBELL encontró en *Aggregata*, en que los cromosomas son mucho mayores que en *Karyolysus*. El sexto cromosoma en *Aggregata* es tan pequeño en comparación con el mayor, que en *Karyolysus*—suponiendo iguales relaciones—podría apenas ser susceptible de observación. El quinto cromosoma en *Aggregata* es también tan pequeño, que podría muy bien coincidir con la pequeña formación que he observado en *Karyolysus* y designado como quinto cromosoma.

Estas dudas tienen poca importancia para los puntos de vista teóricos de los que se trata aquí principalmente; lo importante es que el número de cuatro unidades cromáticas claramente reconocibles que hemos observado en esta fase, volverá a encontrarse de nuevo siempre, según veremos, en el trascurso del desarrollo. Lo mismo ocurre también en los gametocitos jóvenes. De ahí se deduce que la primera división de la esporogonía es una división reductora, pues si no habríamos de encontrar en ella ocho cromosomas. Cierto que no se puede reconocer morfológicamente la duplicidad de los cromosomas que entran en división en *Karyolysus*, pero podemos comparar con las relaciones existentes en *Aggregata*: en ésta demostró DOBELL la presencia de doble número de cromosomas y la unión de cada dos cromosomas idénticos antes de la división.

### 5. PRIMERA PARTE DE LA ESPOROGONÍA: FORMACIÓN DE LOS ESPOROQUINETOS.

Las primeras modificaciones en el protoplasma de los oocistos que tienen relación con la esporogonía, se notan ya antes de la conjugación de cromosomas, durante la aparición de los peque-

ños nucleolos, o hasta ya en la fase con núcleo «homogéneo». Consisten en la aparición de una materia homogénea de reserva que se presenta desde luego en forma de algunas gotas gruesas (lám. II, fig. 15) y que más tarde se distribuye en gran cantidad por todo el protoplasma, de tal manera, que éste presenta entonces, en lugar de una estructura alveolar, una tosca estructura vacuolar.

En los esporozoítos de los Coccidios se encuentra generalmente una materia de reserva análoga a ésta, caracterizada por su avidez para las materias colorantes ácidas, aunque con los colorantes no se conduce del mismo modo en todos los casos. Su utilidad se manifiesta al final de la esporogonía, pues penetra siempre en los esporozoítos cierta cantidad de la referida substancia. Parece que es esta substancia comparable a la substancia vitelina, la que hace principalmente que los esporozoítos no necesiten tomar alimento durante bastante tiempo.

Junto a esta materia de reserva llama especialmente la atención la volutina. Ésta se encuentra ya en pequeña cantidad en los macrogametos antes de la fecundación; puede observarse un aumento de esta substancia durante todo el crecimiento, antes y después de la fecundación, siendo especialmente activo el aumento de volutina poco antes de principiar la esporogonía. La masa principal de volutina forma entonces generalmente pequeñas acumulaciones esparcidas por todo el cuerpo de la célula (lám. II, fig. 15 y lám. III, fig. 36; véanse también en mi trabajo sobre *K. lacertæ,* las figs. 3 y 4 del texto). Estas acumulaciones parecen indicar que existen en el protoplasma determinados centros para la organización de la volutina.

Como la volutina se tiñe con las materias colorantes básicas más fácil y fuertemente que la substancia cromática, las pequeñas acumulaciones de volutina descritas pueden fácilmente confundirse con núcleos, sobre todo cuando la técnica empleada no establece distinción alguna de color entre la volutina y la cromatina. En la literatura de los Coccidios pueden notarse nu-

merosos ejemplos de confusión entre ambas substancias: me limitaré a llamar la atención sobre el hecho de que pueden explicarse de este modo los numerosos datos sobre división nuclear múltiple, así como manifestaciones de modos diferentes de la división nuclear en la misma fase, v. gr.: unas veces mitótico y otras veces amitótico.

En fases avanzadas de la esporogonía de *Karyolysus* vuelve a disminuir la cantidad de volutina: a medida que esta materia de reserva va utilizándose por el aumento de cromatina, los diferentes gránulos van quedando repartidos más regularmente por todo el protoplasma (lám. III, figs. 32-35 y 38-40).

Pasando a ocuparnos ahora de la primera división nuclear de la esporogonía, hemos adelantado ya en el capítulo anterior la formación de los cromosomas dobles y separación de los componentes de los pares. Cuando los cromosomas dobles han adquirido la forma corta y compacta, el núcleo se alarga paralelamente a la superficie de la célula, formando dos puntas. La nueva figura de huso que resulta del alargamiento del núcleo se encuentra siempre inmediatamente debajo de la superficie y es perpendicular al «huso de fecundación». Suele formarse de ordinario ya antes de que la figura fusiforme anterior se haya deshecho completamente (fig. J*b* del texto).

En *Adelea ovata,* SCHELLACK y yo hemos llamado la atención sobre el hecho de que la división del núcleo se verifica en el polo de la célula, que es opuesto al de fecundación. En *Karyolysus,* numerosas figuras muestran igual fenómeno. En la figura 36 (lám. III), por ejemplo, el polo de la fecundación puede todavía reconocerse por la presencia sobre él de un microgameto (♂) que ha llegado demasiado tarde para la fecundación.

El espacio nuclear queda claramente deslindado del protoplasma, lo mismo en la primera división que en las fases posteriores (plurinucleares); la membrana nuclear se conserva visiblemente. Dentro del espacio nuclear se puede reconocer generalmente una delicada estructura alveolar. Puede observarse

a veces que los alvéolos se encuentran dispuestos, más o menos claramente, en series dirigidas hacia los polos del huso (lám. III, fig. 36, y fig. J*b* del texto). También se observan aquí y allí filamentos aislados (fig. J*c*), pero nunca he podido ver un huso de filamentos típico, tal como ha sido descrito en algunos Coccidios en esta división *(Orcheobius, Klossia vitrina, Aggregata eberthi)*.

Cuando los cromosomas se separan dirigiéndose hacia los polos del huso, pronto se disgregan, descomponiéndose en un número creciente de gránulos cada vez menores (fig. J*c*, *lacazei)*. Hacia el final de la división no se encuentran ya más que numerosos gránulos pequeños de cromatina, más o menos claramente dispuestos en series (lám. III, fig. 37, *biretortus)*. El curso de la división coincide, pues, completamente desde este punto de vista con el que ha sido descrito para formas próximas *(Orcheobius,* Kunze, 1907; *Adelea ovata,* Schellack y Reichenow, 1915).

En el núcleo del esporonte de *Karyolysus,* pronto a realizar su primera división, además de la cromatina, se encuentra todavía el gran endosoma. Los nucleolos pequeños, cuya presencia en el núcleo se advertía antes, han desaparecido antes de empezar la división; tampoco en *lacazei* puede ya, en general, comprobarse en la fase con cromosomas la presencia del gran nucleolo constituído en esta especie por la reunión de los pequeños; excepcionalmente se le puede observar todavía durante la división, como lo indica la figura J*c*. En esta figura, dicho nucleolo se encuentra situado muy cerca del gran endosoma, lo cual parece indicar que debe estar a punto de fusionarse de nuevo con él.

Al efectuarse la división nuclear se divide también este gran endosoma. Su división ocurre bastante tarde cuando la materia cromática ha ido ya separándose hacia los polos. Llama la atención el que las dos partes de la división rara vez sean aproximadamente iguales y que con frecuencia sean de tamaño muy dife-

rente (lám. III, fig. 37). Esta diferencia de tamaño se observa también en las divisiones posteriores. Otra particularidad notable es que las partes del endosoma no crecen en el intervalo que separa las divisiones, de donde resulta que, proporcionalmente al aumento del número de núcleos en el esporonte, los endosomas contenidos en los núcleos se vuelvan cada vez más diminutos. Puede deducirse de estas circunstancias que el endosoma no desempeña papel activo alguno durante la multiplicación nuclear, y que más bien queda repartido, de modo puramente pasivo, entre los núcleos que se van formando.

En relación con lo que antecede, es digno de notarse que durante la esporogonía aparece en los núcleos una segunda formación bastante pequeña, generalmente muy pálida, que se parece a un nucleolo. Donde he encontrado más claramente desarrollada esta formación ha sido en *K. zuluetai* (véanse nota de la página 59 y lám. III, fig. 33*n*). La fase más temprana en que he podido comprobarla fué hacia el final de la primera división, durante la organización de los núcleos hijos (lám. III, fig. 37*n*). Que evidentemente no se trata aquí de nucleolos que hayan quedado de fases anteriores, resulta de las indicaciones sobre este particular hechas antes. Por cierto que a veces puede uno dudar al decidir en *bicapsulatus* y *biretortus,* si una pequeña formación redonda encontrada en las fases de división debe considerarse como quinto cromosoma o como un nucleolo (véase fig. J*a-b*); las razones por las cuales me decido a considerar los nucleolos en los núcleos hijos como formaciones nuevas, se fundan principalmente en las circunstancias observadas en *lacazei.* En esta especie, el nucleolo único, que se conserva todavía en la fase de «huso de fecundación», se presenta tan grande y característico, que sería imposible que pasase inadvertida su presencia constante durante la primera división.

Supongo, por consiguiente, que después de la división reductora, los núcleos, ya otra vez sencillos, formen nuevamente un nucleolo. A éste le corresponde organizar la substancia cromá-

tica durante las multiplicaciones nucleares. En cada división el nucleolo se reparte en mitades iguales en los núcleos hijos y, en el intervalo hasta la próxima división, crece hasta llegar a alcanzar su tamaño primitivo. Su división de ordinario precede a la del gran endosoma (véase lám. III, fig. 32*n*). No existen motivos para atribuir a este nucleolo un papel de centro de división (véase, en mi trabajo sobre *K. lacertæ,* el capítulo «Der Binnenkörper der Coccidien»). Al considerar fases posteriores encontraremos la explicación de por qué el endosoma primitivo es transportado como una especie de cuerpo extraño junto a este nucleolo a través de las generaciones de núcleos.

Muy poco de particular queda por describir acerca del curso de la segunda división nuclear y del de las siguientes. Es regla general en los Coccidios que las divisiones nucleares se efectúen junto a la superficie de la célula y que los núcleos estén más o menos aplastados paralelamente a la superficie y comprimidos en cierto modo contra ella. No encontramos ninguna excepción a esta regla en las especies de *Karyolysus*. Durante las divisiones vemos los gránulos de cromatina colocados — como ha sido descrito ya muchas veces en otras especies de Coccidios — en series filiformes (lám. III, fig. 32, *lacazei),* sin que los cromosomas aparezcan como unidades claramente limitadas y contables. También en los núcleos en reposo puede reconocerse muchas veces—más clara mente en *biretortus* (lám. III, fig. 38)— una distribución filiforme de la cromatina.

El número de divisiones nucleares es pequeño en *K. biretortus* y los núcleos conservan hasta el fin su estructura vesicular. El número de gérmenes (esporoquinetos) es, en general, cuatro u ocho, con menos frecuencia seis, algunas veces sólo se observan dos (lám. III, fig. 41), de modo que en este caso toda la primera parte de la esporogonía está representada tan sólo por la división reductora. Una vez alcanzado el número definitivo de núcleos, los hilos de cromatina del núcleo — en los cuales debemos ver, sin duda, los cromosomas — se acortan, mientras que

el núcleo va cambiando su forma aplanada en otra más esférica. El hecho de que las unidades de cromatina acortadas y compactas se coloquen radialmente en el núcleo, da lugar en los Coccidios a las figuras estrelladas de cromatina tan características (lámina III, fig. 38).

El *número* de radios *no permite* deducir el número de cromosomas: aun cuando éstos no se separan en general claramente y, por lo tanto, no se pueden contar con seguridad, se observa, sin embargo, que de ningún modo tienen todos precisamente uno de sus extremos en el centro, sino que se entrecruzan diversamente. La situación de los cromosomas puede explicarse suponiendo que cada uno de ellos toma posesión de un sector determinado del núcleo; pues — cuando empieza la prolificación de los gérmenes por abombamientos de la superficie de la célula — los cromosomas se disocian y sus granitos de cromatina se distribuyen de tal manera, que acaban por infiltrarse de un modo regular en todo el núcleo (lám. III, fig. 39).

Los abombamientos anchos y a modo de yemas de los gérmenes en formación se encuentran desde luego esparcidos bastante uniformemente por la superficie de la célula (lám. III, fig. 39). Pero a medida que van creciendo se trasladan todos hacia uno de los polos de la célula de tal modo, que todos los gérmenes vermiformes que de aquéllos se desarrollan están desde luego situados paralelamente (lám. III, fig. 40).

En los gérmenes penetran, como materia de reserva, granos de volutina y numerosas vacuolas de la materia homogénea de reserva. Estas vacuolas confluyen muy pronto, formando lagunas grandes (lám. III, fig. 41).

He indicado ya brevemente en la ojeada del ciclo vital de *Karyolysus* (pág. 28) que los gérmenes producidos en este período de multiplicación son parásitos vermiformes dotados de movimiento. Como estos parásitos se transforman más tarde en esporocistos, que después se disgregan en esporozoítos, resulta que los primeros corresponden exactamente a los esporoblastos

de otras especies de Coccidios. Es cosa nueva y sorprendente el que esta fase está representada en *Karyolysus* por una forma móvil. Como dicha forma emigra a otro lugar, para terminar allí la esporogonía, he elegido para ella el nombre de *esporoquineto,* por analogía con la denominación de *ooquineto,* dada por SCHAUDINN a la zigota móvil.

La formación de los esporoquinetos presenta en *K. bicapsulatus* algunas diferencias notables respecto a la de *biretortus,* por lo cual hemos de decir aquí algo sobre este particular. En *bicapsulatus* se forma un número mucho mayor de núcleos; he contado hasta 64, lo que corresponde a una séxtuple división nuclear. En conexión con ello, el esporonte crece aún notablemente durante las divisiones nucleares (lám. III, fig. 34), mientras que en *biretortus* el aumento de tamaño es insignificante, o — en casos de formarse sólo dos o cuatro esporoquinetos (lámina III, fig. 41) — falta por completo. Ya hemos mencionado que también en *bicapsulatus* los núcleos presentan una forma vesicular en las fases iniciales. Pero cuando existen ya numerosos núcleos, resulta imposible reconocer un límite entre los núcleos y el protoplasma; la substancia cromática parece encontrarse libre en éste. No se puede comprobar ya con seguridad la presencia del pequeño nucleolo en estos núcleos; pero las partes del endosoma viejo, por su facilidad de teñirse, continúan siempre perfectamente reconocibles (lám. III, fig. 34*b*).

En la formación de las yemas de esporoquinetos se observa, del mismo modo que en *biretortus,* una emigración hacia un polo (lám. III, fig. 35, y lám. VIII, figs. 110 y 111). En conexión con el número mucho mayor de gérmenes, los esporoquinetos jóvenes — a pesar del crecimiento mayor de la célula madre — son notablemente menores que en *biretortus,* por lo cual permanecen todavía durante algún tiempo juntos en la envoltura (lámina VIII, figs. 112 y 113) y crecen a expensas del residuo (R). Como son móviles desde el principio de su origen, se les encuentra revueltos en el quiste. La figura 115 (lám. VIII), que repre-

senta esporoquinetos casi maduros todavía juntos, nos da una imagen como la que se encuentra aproximadamente en todas las especies de *Karolysus*. En todos los casos, el quiste, en situación libre, es esférico; pero, por la delicadeza de su membrana, suele tomar forma irregular, debida a posiciones violentas.

En ácaros que hayan ayunado durante bastante tiempo después de terminar la digestión, puede observarse en *bicapsulatus* una diferencia notable en la formación de los esporoquinetos. Mientras que en esta especie los núcleos de los esporoquinetos surgientes se distinguen ya en circunstancias ordinarias, por la presencia de un número muy pequeño de gránulos de cromatina, en el referido caso se apelotona frecuentemente por completo la cromatina de cada cromosoma. Podemos entonces comprobar de nuevo con gran claridad la presencia de cuatro unidades de cromatina. Las figuras 35 (lám. III) y 110 y 111 (lám. VIII) indican estas particularidades. Vemos en la figura 110 que el apelotonamiento no ha de ser siempre completo en todos los núcleos. También los esporoquinetos más jóvenes, poco después de su separación del residuo, siguen teniendo esta estructura nuclear (lámina IV, figura 47, y lám. VIII, figs. 112 y 113).

Que no se trata en este caso de fenómenos patológicos lo prueba el hecho de encontrar normalmente, más tarde, en los esporozoítos, el núcleo, compuesto igualmente por cuatro cromosomas compactos (lám. V, fig. 65). Se trata solamente de que la formación de los esporoquinetos ha llegado a parecerse a la subsiguiente formación de los esporozoítos, en relación con el desarrollo retardado. Lo mismo que los esporozoítos —en los que está normalmente condicionado por el curso del desarrollo— quedan también los esporoquinetos, en estos casos, juntos mucho tiempo en su envoltura; esperando las condiciones favorables para proseguir su desarrollo. Van creciendo hasta alcanzar su tamaño definitivo, sin hacerse móviles; pues se encuentran en los ácaros en ayuno los esporoquinetos maduros reunidos en haces regulares (lám. VIII, fig. 114)—al contrario de lo que se ve en

las imágenes antes mencionadas—, lo cual ofrece una nueva coincidencia con los esporozoítos. Por esta disposición paralela de los gérmenes alargados toman los quistes naturalmente una forma ovalada oblonga.

Durante el crecimiento de los esporoquinetos se disocian los cromosomas, descomponiéndose en un mayor número de granos de cromatina; puede reconocerse ya el principio de este proceso en algunos esporoquinetos del quiste que representa la figura 113 (lám. VIII).

Es fácil observar en las preparaciones todos los procesos de aquella transformación del núcleo. En las figuras 48-50 (lámina IV) aparecen algunas imágenes de los mismos; la figura 48 permita reconocer todavía con claridad las cuatro unidades de cromatina.

Los esporoquinetos formados en los ácaros que se encuentran en ayuno son mucho más delgados y, por consiguiente, también notablemente más largos que los originados en circunstancias ordinarias. Nos ocuparemos nuevamente de este particular en el capítulo siguiente.

## 6. Los esporoquinetos y la infección del huevo del Acaro.

Antes de continuar la descripción de los fenómenos de desarrollo, debemos comparar los resultados que acabo de describir en la esporogonía con la exposición que hice de sus fases en mi trabajo sobre *K. lacertæ*. Aunque observé ya entonces con acierto todas las fases principales de la primera parte de la esporogonía (véase en el referido trabajo las figs. 1-5 del texto y la fig. 33 de la lámina), llegué a formar un concepto completamente erróneo respecto de la significación de los esporoquinetos, designándolos con el nombre de ooquinetos.

Aunque en parte se debe este error a la prisa que en terminar las investigaciones me impusieron las circunstancias, es muy

instructivo, pues muestra cuán fácilmente puede inducir a error una conclusión prematura de analogía, aun cuando se ponga uno al trabajo con la mejor intención de dejar aparte opiniones preconcebidas. Al descubrir en *K. lacertæ* los grandes individuos vermiformes, la primera idea tuvo que ser considerarlos como ooquinetos, sobre todo porque esta fase se encuentra extendida en general a otros «hemosporidios» *(Plasmodium, Halteridium, Leucocytozoon)*. A ello hay que agregar que en el *Hepatozoon perniciosum* de las ratas, que tantos puntos comunes ofrece con *Karyolysus,* había señalado igualmente MILLER (1908) la presencia de ooquinetos.

En las preparaciones se encontraron, en apariencia, las más hermosas transiciones entre las zigotas esféricas y los «ooquinetos» jóvenes. Estas imágenes, representadas por las figuras 18-21 del trabajo mencionado, no son en realidad sino macrogametos libres más o menos crecidos. He podido de nuevo comprobar frecuentemente la presencia de tales macrogametos que no han encontrado su pareja, los cuales son también numerosos en otras especies de *Karyolysus*. Penetran con frecuencia en las células epiteliales (lám. I, fig. 6), donde toman una forma oval corta. En el *K. lacertæ* se pueden fácilmente confundir con macrogametos ya fecundados, pues el núcleo, que en esta especie al principio no tiene límite preciso y que durante la preparación para la fecundación se vuelve vesicular, toma también este mismo aspecto en los macrogametos crecidos que no han encontrado pareja.

El hecho de que pudiese atribuir a un desarrollo anormal las fases de esporogonía que observé, fué debido a que no se las podía encontrar regularmente. En el *K. lacertæ,* la formación de los esporoquinetos comienza exactamente en el momento en que el ácaro acaba de llenarse nuevamente de sangre y es entonces precisamente cuando la investigación se hace particularmente difícil, a consecuencia de la gran cantidad de sangre no digerida. Además, el curso del proceso es muy rápido, como

sucede también en otras varias especies de *Karyolysus,* por lo cual podría muchas veces pasar inadvertido.

Sólo cuando los ácaros han ayunado durante bastante tiempo después de terminar su digestión, empieza la esporogonía antes de una nueva absorción de alimento y, en este caso, el curso de aquélla es más lento (véanse los datos sobre *K. bicapsulatus*, en el capítulo anterior). El hecho de haber encontrado las fases precisamente en ácaros en ayunas — es decir, en circunstancias anormales — me confirmó naturalmente en la suposición de que se trataba de una formación de esporozoítos extraña al desarrollo normal que se realizaba en el ácaro madre en vez de realizarse en el huevo.

Aún después que en mis nuevas investigaciones encontré con gran regularidad las fases de esporogonía en los ácaros madres, me quedé mucho tiempo en duda respecto de su significación. Seguí creyendo que debía tratarse de una formación de esporozoítos, y que ésta se efectuaba en algunas especies en los huevos y en otras en el ácaro madre, y no quedando resuelta la cuestión hasta que estudié el desarrollo de *K. biretortus*. Esta especie se mostró con mucho la más favorable para establecer el desarrollo en el Acaro, porque, en primer lugar, todas las *Lacerta viridis* estaban infectadas únicamente por una sola y misma especie, y además, porque el desarrollo de ésta es tan rápido que queda efectuado mucho antes de que el Acaro haya terminado su digestión. Una vez dilucidado el enigma en esta especie, no hubo ya dificultad alguna para establecer que, en principio, el proceso era idéntico en todas las demás especies de *Karyolysus*.

Volvamos, pues, ahora a ocuparnos de los esporoquinetos y empecemos por los del *biretortus*. Durante la formación de estos esporoquinetos efectúanse transformaciones muy particulares en el núcleo. Ya antes de que los gérmenes estén separados por completo del residuo, suele observarse generalmente que los granos de cromatina se van retirando de la superficie del

núcleo hacia el centro del mismo (lám. III, fig. 41). En los esporoquinetos jóvenes se observa claramente que se ha constituído, por lo menos un estrato de alvéolos entre la superficie del núcleo y la cromatina (lám. IV, fig. 52). En una fase posterior la cromatina se ha concentrado más y se encuentra ahora separada de la superficie por varios estratos de alvéolos. Es muy notable el que en esta estructura alveolar superficial aparezcan ahora igualmente pequeños granos de cromatina (lám. IV, fig. 53). Así se produce la imagen tan característica de los esporoquinetos de esta especie, cuyo núcleo muestra siempre en el centro una masa claramente limitada de gránulos de cromatina (lám. IV, fig. 54).

El nucleolo pequeño y pálido — cuya presencia puede generalmente comprobarse en la proximidad del endosoma durante la proliferación del germen (lám. III, figs. 40*n* y 41) — acompaña a la cromatina en su traslación hacia el interior, manifestando claramente por ello que pertenece a ésta (lám. IV, figs. 52 y 53*n*. No siempre se le puede divisar en la masa de cromatina aglomerada, sino solamente cuando ocupa en la imagen una situación favorable en el borde. Por el contrario, el endosoma, siempre intensamente teñido, permanece en la superficie del núcleo, dejando reconocer por ello sus relaciones con la capa externa del núcleo. La imagen que resulta de ahí es muy particular y da la impresión de dos núcleos encerrados uno dentro de otro.

En mi opinión, estos fenómenos no admiten más que una sola explicación que, si es exacta, constituye un ejemplo patente de la hipótesis del dualismo nuclear, sostenida por Schaudinn y otros autores (véase Schaudinn, 1905). Según esta hipótesis, como es sabido, están juntas en el núcleo dos clases diferentes de cromatina: una vegetativa y otra generativa. En los esporoquinetos del *K. biretortus* se conserva evidentemente sin alteración la cromatina que constituye los cromosomas, es decir, la cromatina «generativa», mientras que la cro-

matina «vegetativa» se organiza nuevamente en la capa superficial del núcleo, correspondiéndole las funciones del núcleo durante la fase móvil. La organización de dicha cromatina vegetativa es quizás debida al endosoma. De esta manera resulta la extraordinaria imagen del núcleo en la que las dos cromatinas, generativa y vegetativa, se encuentran morfológicamente separadas.

Parece existir una explicación de esta particularidad en el desarrollo muy rápido de *K. biretortus* en el Acaro. Se establece aquí, en cierto modo, en el núcleo del esporoquineto un «estado provisional» por el cual se evita una doble modificación completa de la organización del núcleo en conexión con la intercalación de una fase móvil. De esto resulta manifiestamente una formación más rápida de los esporoquinetos, así como también una reanudación más rápida de las divisiones nucleares, tan pronto como haya llegado el esporoquineto al reposo. La duración de la fase de esporoquineto es también muy corta en *biretortus,* como lo veremos pronto.

No he encontrado en los esporoquinetos de otras especies de *Karyolysus* imágenes del núcleo semejantes a las obtenidas en *biretortus*. En la maduración de los esporoquinetos de *bicapsulatus* no se observa, fuera de un esponjamiento del núcleo, ninguna modificación especial en éste (lám. IV, figs. 42-45). El núcleo queda en general relativamente menor en esta especie. Los escasos granos de cromatina — en los cuales no se puede comprobar un número determinado — aparecen esparcidos de un modo bastante regular. Muchas veces se nota cierto apartamiento de la superficie del núcleo (lám. IV, fig. 44), sin que se pueda sacar ninguna deducción de este particular.

El nucleolo *(n),* que es pequeño, la mayor parte de las veces resulta difícil, y algunas imposible, de distinguir entre los granos de cromatina. Por el contrario, en *K. zuluetai* (véase página 59, nota), especie de la que representa un esporoquineto la figura 46 (lám. IV), se distingue siempre por ser muy visible.

El endosoma del núcleo se presenta con tamaño muy diferente en todas las especies, particularmente en esporoquinetos jóvenes, lo cual está en relación con su división en partes desiguales cuando la división del núcleo, como he señalado antes. En los esporoquinetos jóvenes de *bicapsulatus;* es el endosoma relativamente menor que en los de *biretortus;* lo que se explica por el mayor número de individuos producidos por un esporonte en la primera de estas especies. Más tarde vienen a desaparecer las diferencias de tamaño, porque los endosomas crecen durante la fase de esporoquineto. Este crecimiento, opuesto a su anterior conducta pasiva, es otra prueba de que ya han entrado en función.

El crecimiento de los esporoquinetos para alcanzar su tamaño definitivo, se efectúa en su mayor parte mientras están todavía juntos en el quiste. El aumento de tamaño consiste principalmente en un aumento notable de la materia homogénea de reserva que en el protoplasma confluye en vacuolas cada vez mayores. Cuando los esporoquinetos que van poniéndose en libertad encuentran inmediatamente huevos del Acaro en los que penetrar, resulta muy rápido el paso. En este caso, conservan en todas las especies una forma bastante gruesa, distinguiéndose por el hecho de que la materia homogénea de reserva aparece reunida en unos pocos espacios muy grandes y hasta muchas veces en uno sólo (véase lám. IV, figs. 43-46 y 54). En esta forma típica tienen los esporoquinetos de *biretortus* unas 40 μ de longitud y su mayor anchura es de 5-6 μ; los de *bicapsulatus* tienen dimensiones de unas 27 y 4 μ, respectivamente.

El aspecto de los esporoquinetos se modifica muy notablemente cuando están obligados a permanecer más tiempo en el ácaro madre. En el capítulo anterior hemos hablado ya de un proceso que se aparta del corriente en la formación de los esporoquinetos de *bicapsulatus* en ácaros en estado de ayuno, proceso que conduce a la formación de formas muy delgadas juntas en haces. También los esporoquinetos libres toman una forma

delgada muy alargada (lám. IV, figs. 48 51) y entonces su longitud mide frecuentemente de 40 a 60 μ, el individuo que representa la figura 51 tiene 65 μ. La mayor longitud que pude observar en un esporoquineto fué de 85 μ. Dichos esporoquinetos son en general tanto más delgados cuanto más largos, pero la mayor longitud no está fundada únicamente en la forma más delgada del esporoquineto, pues ya durante la permanencia del esporoquineto en el celoma del ácaro madre, se efectúa también un aumento de tamaño, aumento que en los esporoquinetos que se introducen pronto en los huevos, no tiene lugar hasta después de su penetración en éstos. Lo que distingue esos largos esporoquinetos es que en ellos la materia homogénea de reserva se encuentra repartida en numerosas vacuolas.

El modo de conducirse que acabo de describir lo he observado con frecuencia en los esporoquinetos de *bicapsulatus,* los cuales están a veces repartidos en un ácaro formando masas enormes; sin embargo, imágenes idénticas aparecen también en otras especies de *Karyolysus*. El aspecto de aquellos esporoquinetos parece tan extraño a primera vista, que he creído durante mucho tiempo, que se trataba de otra especie.

La infección de los huevos de Acaro tiene lugar cuando éstos han salido del ovario y quedan libres en el celoma antes de pasar al útero (véase pág. 20). Durante este tiempo los huevos fusionándose con células vitelinas que se interponen a la entrada del útero, crecen hasta alcanzar su tamaño definitivo. En esta situación libre, el huevo ejerce manifiestamente una acción quimiotáctica sobre todos los esporoquinetos que estén entonces maduros.

Las preparaciones de cortes permiten distinguir que la masa principal de los esporoquinetos está situada en el celoma, alrededor del huevo y próxima a éste. En los casos de infección intensa se encuentra también, acá y allá, en la superficie del huevo, algún parásito a medio penetrar. La penetración en el huevo puede tener lugar por cualquier sitio. Excepcionalmente se

observa también que un esporoquineto ha penetrado en una de las células vitelinas próxima al huevo y que va a fusionarse con él.

Hemos indicado anteriormente que, en varias especies de *Karyolysus,* los gametocitos conjugados infectan también, entre otras células del Acaro, los huevos del ovario. Podría, pues, suponerse que los esporoquinetos producidos de este modo en los huevos permaneciesen allí; sin embargo, no sucede así. Los esporoquinetos que se han desarrollado en los huevos del ovario pasan también de los mismos al celoma, para penetrar en el huevo que está madurando allí. Nunca puede observarse la infección de un huevo con esporoquinetos maduros antes de que haya salido del ovario. Puesto que durante el tiempo en que el huevo está situado en el celoma tiene también lugar su fecundación, no es imposible que el huevo ejerza atracción sobre los esporoquinetos sólo después de ser fecundado.

En la mayor parte de las especies de *Karyolysus* (véase también *K. lacertæ),* el desarrollo en el ácaro madre exige tanto tiempo que los primeros esporoquinetos no quedan formados hasta después de un nuevo acto de succión del ácaro. Los esporoquinetos suelen aparecer en los huevos, lo más pronto, a los dos o tres días después de una nueva succión de alimento por parte de su patrón. Muy pocas veces se encuentran ya infectados los primeros huevos puestos durante el nuevo período de digestión. Como hemos dicho ya varias veces, la temperatura ejerce una gran influencia sobre el desarrollo: a temperaturas bajas puede éste ser retardado, tanto que no se encuentran los esporoquinetos en los huevos hasta después del tercer acto de succión del ácaro.

En *K. biretortus,* por el contrario, se efectúa el desarrollo tan rápidamente, que llega a quedar completamente terminado durante *un* período de digestión del patrón. En esta especie, la formación de los esporoquinetos se efectúa ya a los cuatro días después de la succión de sangre infectada y, conforme con ello,

desde el quinto día se encuentran esporoquinetos en los huevos. Cuando el ácaro se dispone para una nueva succión de sangre, suele haber quedado ya limpio por completo de su infección.

Como *biretortus* se distingue por el hecho de que puede des-



Figura L.

**Pata de un ácaro repleta de esporoquinetos de *K. bicapsulatus*, que se encuentran distribuídos entre los músculos. × 300.**

arrollarse también en las ninfas, resulta que los ácaros hembras que fueron infectados en estado de ninfa tienen ya esporoquinetos cuando ponen sus primeros huevos y, en este caso, estos primeros huevos pueden contener ya esporoquinetos. Las fases de desarrollo de *birctortus* en ninfas machos quedan naturalmente perdidas para la especie, puesto que los esporoquinetos sólo pueden seguir desarrollándose en los huevos.

Resulta ventajoso, tanto para el parásito como para el patrón, el que los esporoquinetos pasen rápidamente a los huevos. Los esporoquinetos que se encuentran libres en el celoma son víctimas en gran número de la actividad de los fagocitos: se les puede observar más o menos digeridos en estas células (lámina VIII, fig. 116). En las infecciones intensas alcanzan los fagocitos, a consecuencia de su viva actividad, un tamaño enorme; pero su número no aumenta, del mismo modo que, en general, no se observa tampoco multiplicación alguna de células en los ácaros adultos.

Cuando no se encuentra ningún huevo madurando en el celoma — es decir, al final de un período de digestión — los esporoquinetos quedan errando sin objeto en el cuerpo del ácaro. Suelen entonces reunirse en gran número, especialmente en las patas, donde evidentemente no encuentran con facilidad la salida. En casos de infección intensa pueden llenar aquéllas de tal manera que el ácaro queda incapacitado para cualquier movimiento (fig. L). Además, los esporoquinetos que se acumulan en masa en el ácaro provocan otras perturbaciones en las funciones del patrón: se puede observar que cuando los ácaros se han llenado nuevamente con sangre no pueden digerirla y mueren por fin lentamente.

Prescindiendo de este caso de efecto manifiestamente mecánico, el *Karyolysus* no ocasiona, aun en las infecciones intensas, ningún daño a los ácaros atacados.

## 7. Segunda parte de la esporogonía: Formación de los esporozoítos en la generación hija del Acaro

Los esporoquinetos que han penetrado en el huevo del Acaro avanzan hacia el centro del mismo, quedándose entre las esferas vitelinas. La mayor parte de ellos se presentan allí acumulados, formando uno o varios grupos. La figura 8 (lám. I) repre-

senta el corte de un huevo situado aún en el útero e infectado con esporoquinetos de *bicapsulatus*. La situación de los parásitos, así como su tamaño con relación con el del huevo, pueden notarse en la figura. Dentro del huevo no efectúa el esporoquineto movimientos de traslación de alguna duración; por el contrario, muy pronto, y aun antes de que haya modificado su forma, se produce una membrana, delicada al principio (lám. IV, figs. 45 y 54). En los huevos recién puestos todos los esporoquinetos están ya provistos de dicha membrana, por lo cual no se observan ya traslaciones de lugar en las preparaciones frescas, sino solamente encorvamientos dentro de la elástica envoltura. En las preparaciones por disociación mecánica de ácaros hembras se encuentran frecuentemente formas rodeadas ya de una membrana; estas formas son individuos que habían penetrado ya en un huevo y que, al romperse éste al hacer la preparación, quedan otra vez libres.

Es un fenómeno general en los parásitos que cambian de patrón el que mueran una parte de ellos cada vez que pasan a un nuevo ambiente. Hemos observado en *Karyolysus* que este fenómeno se manifiesta en gran escala al trasladarse los parásitos de la sangre de los Lacértidos al intestino del Acaro. La penetración de los esporoquinetos en los huevos del Acaro representa evidentemente también un cambio de medio, aunque no tan brusco como el mencionado antes. Situándonos en este punto de vista, nos explicamos por qué se observan con frecuencia individuos degenerados entre los esporoquinetos del huevo del Acaro. Entre éstos se encuentran muy a menudo formas desprovistas de núcleo. En la mayor parte de los casos nada puede afirmarse respecto de la suerte sufrida por el núcleo, pero he observado en algunos casos que el núcleo entero había salido del cuerpo de la célula y se encontraba al lado de éste dentro de la membrana del quiste.

Como observé en *K. lacertæ*, encontramos también en las demás especies de *Karyolysus* que los parásitos existentes en

el huevo del Acaro no perjudican en modo alguno el desarrollo del embrión, aunque su número ascienda a centenares. Pero en algunos raros casos sucede que los esporoquinetos pueden contarse por miles en un solo huevo y entonces se encuentra el huevo tan repleto de ellos que, en realidad, no queda ya materialmente sitio para el desarrollo del embrión y el huevo tiene que perecer.

Consideremos ahora la continuación del desarrollo de los esporoquinetos en el huevo. Después de la producción de la envoltura, van éstos acortándose poco a poco y toman, finalmente, una forma que se aproxima a la que presenta más tarde el quiste maduro. En *biretortus,* por ejemplo, esta forma es oval alargada, en *bicapsulatus* circular (lám. V, figs. 70 y 59). Las modificaciones ocurridas en el protoplasma consisten en la descomposición de las grandes lagunas de materia de reserva en numerosas vacuolas y en un aumento notable de la volutina: ya he señalado estas transformaciones más detenidamente en *K. lacertæ* (véanse en el trabajo citado las figs. 26-30). En *K. lacertæ* no he podido observar más que de un modo incompleto los procesos que se desarrollan en el núcleo antes de la primera división de éste, por lo cual los estudiaremos más detalladamente en *K. biretortus.*

En los esporoquinetos algo acortados no encontramos ya la cromatina «generativa» acumulada en el centro del núcleo, sino regularmente repartida por todo él (lám. IV, fig. 57). Muchas imágenes de núcleos coinciden en mostrar que la modificación se realiza de tal manera, que la cromatina «generativa» se retira desde luego al lado del núcleo opuesto al que ocupa el endosoma, mientras que, por el contrario, la cromatina «vegetativa» se reune muy cerca del endosoma (lám. IV, figs. 55 y 56). Después, ya no se puede averiguar nada más de esta cromatina. Quizás sea absorbida por el endosoma, en favor de lo cual está el hecho de que, precisamente en este período, resulta muy notable su crecimiento (compárese la fig. 54 con la 57 y siguientes).

Mientras la cromatina «generativa» se va apartando del endosoma, empieza a esponjarse permitiendo reconocer entonces una disposición filiforme (lám. IV, figs. 55 y 56). Esta estructura filiforme desaparece después — por lo menos para el observador — cuando la cromatina se distribuye en granitos menores (lámina IV, fig. 57). Entonces el pequeño nucleolo queda en general perfectamente visible y con frecuencia aparece ya un segundo nucleolo (lám. IV, fig. 57*n*).

Al terminar de acortarse el esporoquineto se encuentra el núcleo en la proximidad de un polo de la célula, la cual se debe designar ya con el nombre de esporocisto. Los nucleolos son entonces en mayor número; pueden verse generalmente tres o cuatro. El núcleo se vuelve pronto más rico en cromatina y ésta presenta de nuevo una disposición filamentosa (lám. V, figura 70). Esta imagen se asemeja mucho a las que hemos visto anteriormente antes de la división reductora (véase fig. H*a-b*), sólo que presenta un número menor de nucleolos. Es posible que el número de nucleolos corresponda al de cromosomas y que, a consecuencia de ello, sea ahora la mitad del que era antes de la división reductora. No puedo decidir esta cuestión, puesto que no es posible distinguir en cada caso si un gránulo teñido en el núcleo representa un gránulo de cromatina o un pequeño nucleolo.

La producción de los nucleolos se efectúa como antes de la división reductora, por la salida del endosoma (lám. IV, figura 58). No se puede naturalmente distinguir si entre aquéllos subsiste el nucleolo antes presente. Por el aumento de riqueza en cromatina aparecen claramente los cromosomas como largos hilos muchas veces torcidos. El límite del núcleo con el protoplasma desaparece y los cromosomas se esparcen muy cerca de la superficie de la célula, ocupando un espacio bastante grande (lám. V, fig. 71). No es posible calcular el número de cromosomas, porque se entrecruzan de muchas maneras y, además, porque su división empieza evidentemente muy pron-

to. Durante el transcurso de estos fenómenos vuelve otra vez todo el aparato nuclear hacia el «ecuador». Y entonces se van separando los cromosomas en dirección transversal. No puede reconocerse ningún aparato fusiforme de división. Cuando la separación de los cromosomas es ya claramente reconocible, se divide también el endosoma (lám. V, fig. 72). En los dos núcleos que resultan de dicha división conserva la cromatina su disposición filamentosa; no se produce un límite entre la substancia nuclear y el protoplasma (lám. V, fig. 73). No he podido comprobar, ni durante la primera división, ni en el curso de fases posteriores, la presencia de un nucleolo al lado del gran endosoma, como el que desempeña un papel en la primera parte de la esporogonía; tampoco lo he hallado en otras especies de *Karyolysus*.

Como vemos, en la formación de los esporozoítos — al contrario de lo que ocurre en la primera parte de la esporogonía — falta desde el principio la membrana nuclear y, también en este punto, aparecen divergencias entre las varias especies como queda demostrado por el hecho de que he podido reconocer en *K. lacertæ* un límite claro del núcleo durante la primera división, que falta ya en la segunda (véanse en el trabajo indicado figs. 31 y 32).

Si comparamos las imágenes nucleares que aparecen en *biretortus* con las correspondientes de *bicapsulatus* y del ya mencionado *zuluetai*, veremos que se trata aquí de procesos esencialmente iguales.

Las dos últimas especies citadas se comportan de un modo casi idéntico por completo; sólo los esporocistos muy jóvenes resultan fáciles de distinguir, por el hecho de que en el núcleo de *zuluetai* el nucleolo queda relativamente grande y manifiesto (lám. V, fig. 59*n*), particularidad por la cual, como antes he dicho, se distingue también el esporoquineto de esta especie (lám. IV, fig. 46). De las figuras 59-64 (lám. V), la 59 y la 60 se refieren a *zuluetai*, y las restantes a *bicapsulatus*.

Habiéndose transformado el esporoquineto en esporocisto, empiezan los gránulos de cromatina del núcleo a reunirse en varios grupos separados unos de otros (lám. V, fig. 59). La subsiguiente salida de los nucleolos del endosoma proporciona imágenes muy características (lám. V, fig. 60). Los nucleolos producidos son bastante grandes; parecen surgir todos a la vez de un solo punto. Se ponen en relación con los montoncitos de cromatina, sin que se pueda, sin embargo, distinguir si a cada uno de éstos le corresponde un sólo nucleolo, pues unos y otros forman una masa densa, en la cual no se distingue detalles. Con mucha frecuencia pueden reconocerse cuatro grandes masas y además una pequeña acumulación de cromatina.

Cuando han terminado de formarse los cromosomas filiformes, desaparece el límite entre el núcleo y el protoplasma; las imágenes de la primera división muestran una gran analogía con las de *biretortus* (compárense en la lám. V las figs. 61 y 72). El número de cuatro en los cromosomas puede comprobarse frecuentemente con bastante seguridad, pues los hilos son bastante más cortos que en *biretortus*. En la división del endosoma se observan muchas veces figuras bastante irregulares, lo cual está en relación con la división de este cuerpo en partes desiguales (lám. V, fig. 62).

La segunda división del núcleo se efectúa exactamente del mismo modo que la primera. Los cromosomas se parten (lámina V, fig. 63, *c-c)* y sus mitades se separan; los endosomas se dividen lo mismo.

Todas las especies de *Karyolysus* coinciden en que los esporocistos —como lo señalé también en *K. lacertæ*— sólo se fijan y tiñen completamente bien, a lo sumo hasta la fase de cuatro núcleos (lám. V, fig. 64). Después se vuelve la membrana del quiste tan resistente que suelen producirse deformaciones en el momento de la fijación. Aun cuando después se puede obtener todavía la coloración dejando obrar durante varios días la materia colorante, las imágenes que se consiguen de este modo no pueden

ser utilizadas para la determinación de delicados detalles citológicos. Puede observarse que el endosoma toma también parte en las divisiones posteriores, conservándose hasta el fin.

Al ir a separarse los esporozoítos del residuo, en los quistes circulares todas las yemas se agrupan en un solo lado y en los ovales en ambos polos. En consecuencia aparecen todos los esporozoítos formando un solo haz en los quistes maduros de *bicapsulatus* y dos haces en los de *biretortus* (lám. V, figs. 65 y 74). Naturalmente esta disposición se observa con regularidad sólo muy poco tiempo después de la formación de los esporozoítos: sobre todo en las formas ovales, en quistes más viejos, aparecen entremezclados unos con otros, a consecuencia de los movimientos que a veces efectúan.

He hablado de quistes «circulares» y «ovales» y no de «esféricos» y «elipsoidales» porque he encontrado en todas las especies que los esporocistos son más o menos aplanados. En las preparaciones por disociación mecánica suelen yacer naturalmente sobre un lado aplanado; para darse una idea clara de su forma, hay que dejar rodar los quistes en preparaciones frescas, o investigar preparaciones de cortes del patrón (fig. Ll, página 90). Entre todas las especies, en *bicapsulatus* es donde he encontrado el aplanamiento mayor. Siendo el diámetro mayor del quiste de unas 20 μ, el eje entre ambas superficies aplanadas mide de 13 a 14 μ. En los quistes de *biretortus* la longitud oscila generalmente entre 30 y 35 μ, la anchura mayor entre 20 y 23 μ, mientras que el aplanamiento es sólo de 2 a 3 μ.

El número de esporozoítos es en general 14 en *bicapsulatus;* con gran regularidad 16 — muy pocas veces menos — en *zuluetai;* unos 30 — excepcionalmente 40 y más — en *biretortus*.

Como ya puede deducirse de la constitución de los núcleos en los esporocistos en maduración, los núcleos de los esporozoítos contienen manifiestamente siempre un endosoma. La presencia de éste en *biretortus* no puede comprobarse en todos los casos, aunque sí en muchos, en preparaciones bien diferenciadas (lámi-

na V, fig. 74*b)*. En *bicapsulatus* no puedo asegurar la presencia del endosoma hasta que los esporozoítos quedan en libertad en el intestino de lacértidos (lám. V, fig. 66*b)*. En esta especie el núcleo de los esporozoítos muestra siempre de un modo claro cuatro grandes granos redondos de cromatina (fig. 65); aquí se conservan, pues, los cromosomas perfectamente aislados en forma compacta. Los núcleos de los esporozoítos de *biretortus* por el contrario, están constituídos por un número mayor e indeterminable de granos de cromatina. Queda en duda si los cromosomas aparecen aquí solamente en una forma esponjosa que impide distinguir unos de otros, o si se encuentran completamente desagregados. Al lado del núcleo contienen los esporozoítos una vacuola llena de la materia homogénea de reserva varias veces mencionada. Esta vacuola es bastante notable y de forma ovalada en *bicapsulatus,* pequeña y redonda en *biretortus,* en el cual muchas veces no puede comprobarse su presencia.

Me limito aquí a esta corta reseña, porque en la segunda parte de este trabajo haré una detallada descripción comparada de los esporocistos maduros de las varias especies de *Karyolysus,* dando figuras de quistes vivos.

Pasemos a ocuparnos de las relaciones entre los parásitos heredados y sus nuevos patrones. Los datos que he señalado en *K. lacertæ* sobre la relación entre el desarrollo de los esporozoítos y el de los ácaros jóvenes, son aplicables también a las otras especies de *Karyolysus*. Cuando la larva abandona el huevo, se han transformado ya en ella todos los esporoquinetos en esporocistos, y las divisiones nucleares han comenzado ya en parte. Al transformarse la larva en ninfa, han terminado ya las divisiones nucleares en los quistes y cuando la ninfa, algunos días después, busca un lacértido para su primera succión de sangre, contiene ya quistes de *Karyolysus* completamente maduros.

Indiqué anteriormente, por error, que los quistes se encon-

traban en el celoma de los ácaros jóvenes. Como aquéllos permanecen hasta el fin en la substancia vitelina y ésta, en los embriones más desarrollados y también en las larvas y ninfas

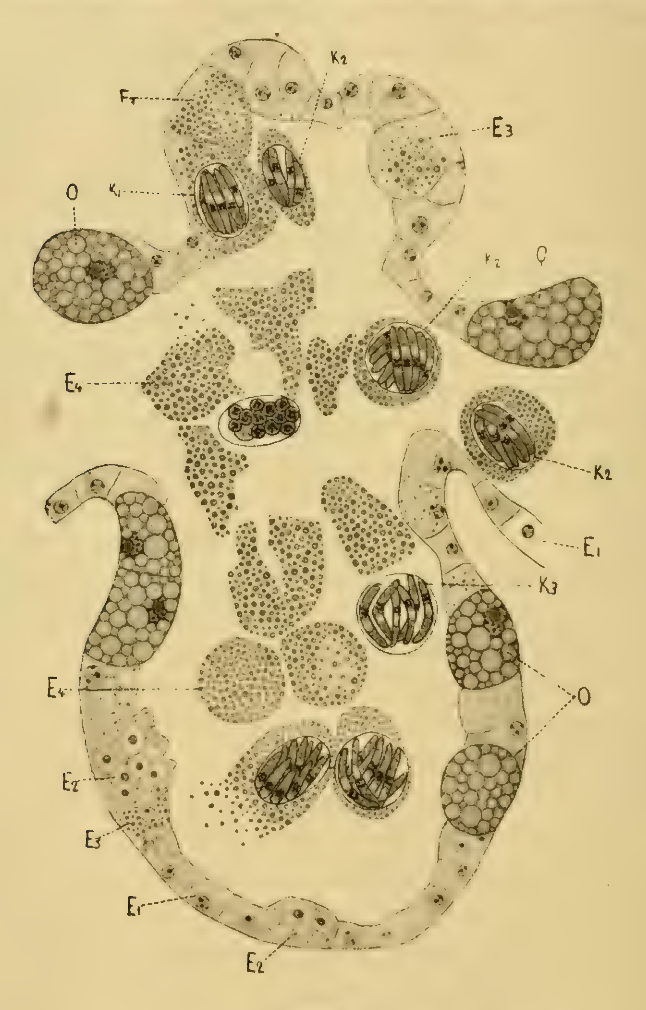



Figura Ll.

Corte de la parte media del intestino de una ninfa con esporocistos de *K. bicapsulatus:* $E_1$, células epiteliales todavía no fagocíticas; $E_2$, células con eritrocitos de lagartija; $E_3$, células con granos de pigmento; $E_4$, células gastadas; O, ovocitos del ácaro; $K_{1-3}$, esporocistos de *K. bicapsulatus*.

jóvenes, llena el intestino, resulta que los quistes han de encontrarse también en el intestino. En las ninfas maduras no se les encuentra libres en la luz del intestino, sino intracelularmente en las células epiteliales intestinales. Parece que el epitelio del intestino se forma directamente de las células del vitelo. Probablemente, debido a ello, los quistes de *Karyolysus* encerrados en el vitelo quedan repartidos desde un principio en las células epiteliales. Pero sería también posible que los quistes quedasen primero fuera de las células, y que su situación intracelular sea consecuencia de la actividad fagocítica del epitelio del intestino. Mis preparaciones de cortes no me permiten dilucidar esta cuestión, porque mientras exista todavía vitelo no puede reconocerse la cavidad intestinal. Tan pronto como queda consumida la substancia vitelina en las células epiteliales del intestino, va la ninfa a hacer su primera succión de sangre.

Recordaremos que las ninfas después de esta succión de sangre se transforman en machos y hembras sexualmente maduros (véase pág. 12). Cuando a su vez las hembras fecundadas han absorbido sangre por vez primera (es decir, por segunda vez en su vida), entonces, sólo muy pocas veces puede encontrarse en ellas algún que otro representante de los quistes heredados de *Karyolysus*. Las causas de esta desaparición, que ya indiqué también en *K. lacertæ* sin poderla investigar entonces más detenidamente, son fáciles de comprobar si investigamos cortes de ninfas infectadas después de la succión de sangre y durante la digestión.

La figura Ll representa un corte horizontal de la parte media del intestino de una ninfa infectada con quistes de *bicapsulatus,* en la cual ha quedado casi terminada la digestión. Hemos explicado ya la imagen citológica del intestino al hablar de la digestión intracelular del Acaro (véanse págs. 16 y 20). Encontramos aquí casi todos los quistes de *Karyolysus* dentro de las células epiteliales gastadas y eliminadas (K2) o libres en el interior del intestino a consecuencia de la destrucción de

éstas (K3). Sólo en un sitio observamos un quiste contenido en una célula que se encuentra todavía en unión con el epitelio (K1). Esta célula, por su abundante contenido en granulaciones de pigmento, permite reconocer también que está próxima a inutilizarse. En las ninfas, como la que ha servido para obtener la figura, se encuentra también regularmente un cierto número de quistes que han pasado ya a la vejiga rectal.

Durante la próxima succión de sangre, todos los quistes que se encuentran en el interior del intestino son empujados, junto con las células eliminadas, a la vejiga rectal, siendo luego expulsados con el excremento. No es verosímil que los quistes arrojados de este modo al exterior puedan desempeñar papel en la infección de los lacértidos, pues no soportan la sequedad. Unicamente podría tomarse en consideración el que una gotita de excremento, depositada durante la succión de sangre sobre la piel de un lacértido, fuera lamida por éste de modo análogo al comprobado por Nöller (1912) en la transmisión del Tripanosoma de las ratas. Pero para ello habría que suponer que los lacértidos son molestados por el acto de succión de los ácaros; pero nunca se observa que hagan caso de los ácaros que llevan.

El hecho de encontrar los quistes de *Karyolysus*, cuando la primera succión de sangre, exclusivamente en células que han entrado en actividad fagocítica, mientras que las células que permanecen todavía en un estado joven se ven libres de quistes, podría ser favorable a la hipótesis de que los quistes han sido incorporados al epitelio únicamente a consecuencia de la fagocitosis. Pero, en mi opinión, este fenómeno puede tener también la explicación contraria de que precisamente aquellas células que contienen quistes experimentan por ello una excitación para un crecimiento más rápido, en virtud del cual son de las primeras maduras para la actividad fagocítica.

Sea lo que fuere, el hecho de que los quistes se encuentran en aquellas células que han de gastarse primero, explica el que los ácaros hembras se limpien rápidamente de su infección here-

dada, y así se comprende porque más tarde sólo excepcionalmente encontramos en ellos quistes de *Karyolysus*. Los ácaros machos, después del primer acto de succión en estado de ninfa, toman sólo muy pequeñas cantidades de alimento (véase página 12). En ellos no se efectúa, pues, una limpieza tan completa del intestino y los quistes de *Karyolysus* no desaparecen.

## 8. Infección de la Lagartija

Dejé establecido en *Karyolysus lacertæ* que la infección de las lagartijas tiene lugar por el tubo digestivo. Quedó comprobado que los quistes se abren bajo la influencia del jugo intestinal y que los esporozoítos se encuentran vivos y móviles en éste. También se practicó la infección experimental de una lagartija por dicha vía. Lo que no fué entonces objeto de investigación es el camino por el cual los esporozoítos pasan del contenido intestinal al sistema vascular de la sangre y la manera con la que van extendiéndose por todo el cuerpo de la Lagartija.

Labbé (1894) supuso ya en su discusión detallada de todos los modos posibles de transmisión de los parásitos de la sangre de un vertebrado a otro, que había que tener en cuenta dos caminos para la infección procedente del tubo intestinal: el paso por el epitelio intestinal y el paso por los conductos biliares remontando hacia el hígado. Por lo que se refiere a nuestro caso especial, podría hablar en favor de este último camino el hecho de que en las lagartijas infectadas se encuentran fases de multiplicación especialmente numerosas en el hígado. Pero aún podemos conjeturar un tercer camino: el paso desde la cloaca, por los uréteres, a los riñones; pues, como lo han establecido ya numerosos autores, el riñón es también un sitio de preferencia para las fases de multiplicación de los hemococcidios. Pero supongamos que la infección se realiza sencillamente por la vía más corta, por el paso a través del epitelio, entonces quedaría aún por determinar en qué parte del tubo digestivo (estómago, intestino delgado,

ciego, intestino grueso, cloaca), se produce este fenómeno, pues según en cuál de estas partes sea, resultará muy diferente el camino ulterior en la sangre.

La investigación de las primeras fases de una infección es indiscutiblemente la parte más penosa de un trabajo sobre el desarrollo de Protozoos parásitos. Nada extraño, pues, que en la literatura, no sólo de los Coccidios (véase sobre ello las indicaciones de SCHELLACH, 1913, pág. 284), sino de los Protozoos parásitos en general, veamos esta cuestión tratada con bastante descuido. El conocimiento de los fenómenos del comienzo de la infección es de una importancia especial, precisamente en los Coccidios que viven en la sangre, pues solamente por él podemos llegar a la comprensión del desarrollo del hemoparasitismo. Y como se trataba de llenar una laguna sensible, me pareció el estudio de aquellos fenómenos lo bastante importante para que mereciese dedicarle una porción considerable de tiempo.

Para investigar en el voluminoso organismo de un vertebrado las fases de un parásito, antes de que se haya verificado una multiplicación, es necesario, por una parte, trabajar con animales de experimento lo menores posible y, por otra parte, conseguir una infección muy intensa. Elegí para mis experimentos unas *Lacerta muralis* muy jóvenes, que fuí recogiendo en cuanto se podían encontrar los primeros individuos recién salidos del huevo. El emplear animales muy jóvenes tiene también la ventaja de poder excluir con gran probabilidad la existencia de una infección ocurrida en estado libre. Por lo demás, este punto no tiene importancia para la investigación de las fases primeras, es decir, de los esporozoítos y de su migración.

En el experimento que hice anteriormente de alimentar una *L. muralis* adulta con 28 ninfas que contenían esporocistos de *K. lacertæ,* sólo pude conseguir una infección bastante débil (véase el trabajo indicado, pág. 345). Supuse que empleando animales más jóvenes y mayor número de ninfas, podría mejorar mis resultados; pero el éxito no correspondió a mis esperan-

zas. Los numerosos experimentos de alimentación fueron por completo negativos, excepto en un caso—y aun éste dudoso—, en una *L. viridis,* del que hablaré más adelante. Prescindo de relatar aquí todos los experimentos que resultaron negativos, y sólo voy a indicar el que fué decisivo para demostrar que el camino emprendido hasta entonces no podía corresponder a las condiciones naturales de la infección.

*L. muralis joven, núm. 9,* fué alimentado con 331 ninfas (1), procedentes de un mismo grupo de ensayo, formado por 40 ácaros hembras, de cuyo número, las tres cuartas partes cuando menos, estaban infectados con esporocistos de *K. bicapsulatus.* Durante ocho días, la alimentación fué como sigue:

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4 | Diciembre | 1917. | A las | 12 del día | : 14 | ninfas. | | | | |
| 5 | — | — | — | — | : 22 | — | A las 4 | de la tarde | : 20 | ninfas. |
| 6 | — | — | — | — | : 25 | — | — | — | : 25 | — |
| 7 | — | — | — | — | : 30 | — | — | — | : 30 | — |
| 8 | — | — | — | — | : 30 | — | — | — | : 30 | — |
| 9 | — | — | — | — | : 34 | — | | | | |
| 10 | — | — | — | — | : 24 | — | — | — | : 27 | — |
| 11 | — | — | — | — | : 20 | — | | | | |

La lagartija fué matada el 11 de Diciembre, a las cinco de la tarde. El tubo digestivo fué investigado, en toda su longitud, en preparaciones de cortes. Se encontraron numerosas ninfas en el estómago, intestino delgado, intestino grueso y cloaca. Todas las ninfas estaban completamente ilesas e histológicamente bien conservadas y en su intestino los quistes de *Karyolysus* estaban todos sin abrir; ningún esporozoíto había abandonado su quiste. El contenido del intestino de la lagartija tampoco presentaba quistes ni esporozoítos libres; éstos tampoco podían observarse en los tejidos. Casi es supérfluo añadir que la pesquisa de espo-

(1) He descrito en mi trabajo anterior el método empleado para la alimentación. Pero como no pude procurarme en Madrid gusanos de tahona, adhería las ninfas al contenido de pupas de moscas, o también a pedazos de moscas dilaceradas.

rozoítos en la sangre, hígado, riñones y pulmones resultó también negativa.

De estos resultados se deduce claramente que la Lagartija, en ninguna de las partes de su aparato digestivo, es capaz de desdestruir las ninfas y, por consiguiente, de poner los quistes en libertad, ni de dejar siquiera llegar a ellos las secreciones digestivas que — como sabemos — provocan la salida de los esporozoítos. Por consiguiente, la infección puede realizarse sólo excepcionalmente cuando una ninfa ha sido casualmente aplastada por las mandíbulas, o rota dentro del intestino por el efecto mecánico de restos grandes y rígidos de quitina, caso este último algo más probable en las lagartijas adultas.

El fracaso de los experimentos de alimentación con ninfas infectadas hicieron conjeturar de momento que quizás los quistes provocasen la infección de las lagartijas sólo cuando han sido depositados con el excremento de los ácaros. Hemos indicado ya, al final del capítulo anterior, las razones en contra de esta opinión.

Entonces procedí a ensayar si las ninfas se destruían más fácilmente en el intestino de las lagartijas, cuando se les deja chupar sangre antes de utilizarlas como alimento. Así encontré, del modo más sencillo, la solución del enigma. Cuando los ácaros — sean ninfas o hembras — se han rellenado de sangre, la envoltura quitinosa se encuentra en tal estado de distensión, que basta la menor presión para reventarlos. Utilizando como alimento ninfas así repletas y cuidando de que lleguen al intestino no sólo cuerpos blandos, sino también trozos mayores de quitina, como ocurre en las condiciones naturales, se encuentra sólo muy rara vez en el excremento de la lagartija un individuo que haya podido salir intacto del tubo digestivo. Con este procedimiento la infección experimental de las lagartijas no ofrece ya ninguna dificultad; he conseguido siempre de este modo infecciones cuya intensidad coincidía perfectamente con la cantidad de quistes tragados.

Es evidente que también en las condiciones naturales las lagartijas comen con mucha más frecuencia las ninfas repletas de sangre que las que se encuentran en ayunas, puesto que las primeras saltan más a la vista: su volumen ha aumentado notablemente por la succión de sangre y por lo general están ya apareadas, es decir, la ninfa hembra lleva en el dorso una — y muchas veces también dos — ninfas machos; además, su color es rojo brillante y sus movimientos lentos y torpes.

El material para la observación del comienzo de la infección y primeros fenómenos de extensión en la Lagartija ha sido suministrado por tres experimentos de alimentación, cuya marcha indico a continuación:

*L. muralis joven, núm. 17,* cogida en Madrid el día 30 de Julio de 1918, alimentada con 109 ninfas, casi todas ellas intensamente infectadas con *K. bicapsulatus*. Las ninfas eran hijas de madres que, unas en la noche del 15 al 16 de Julio, otras en la del 17 al 18, habían chupado sangre de una lagartija infectada y después, todas en la noche del 25 al 26, de una lagartija no infectada, y luego puesto huevos infectados. El 5 de Agosto todas las ninfas maduras fueron puestas con una lagartija no infectada y, en los días siguientes, las que se encontraban repletas de sangre fueron empleadas para alimentar la lagartija de experimentación. La ingestión de ninfas se distribuyó como sigue:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 6 de Agosto, | a las | 7 de la tarde | : 50 | ninfas. |
| 7 — | — | 12 del día | : 34 | — |
| 8 — | — | 5 de la tarde | : 25 | — |

Se mató la lagartija el día 9 del mismo mes, a las once de la mañana. En este animal había pues que esperar fases de infección de uno, dos y tres días.

*L. muralis joven, núm. 18,* cogida en Madrid el 3 de Agosto de 1918, alimentada con 259 ninfas que procedían de dos grupos de experimentación de animales madres. El material de ali-

mentación fué obtenido de modo análogo al descrito en el experimento anterior. Casi todas lan ninfas contenían numerosos quistes de *K. bicapsulatus* y además un número menor de quistes de *lacazei*. La ingestión de ninfas fué distribuída en seis días, del modo siguiente:

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 18 | de Agosto, | a las 10 1/2 | de la | mañana: | 77 | ninfas. |
| 19 | — | — 10 | — | — | : 46 | — |
| 20 | — | — 4 1/2 | — | tarde | : 15 | — |
| 21 | — | — 11 | — | mañana | : 32 | — |
| 22 | — | — 11 | — | — | : 45 | — |
| 23 | — | — 11 | — | — | : 34 | — |

A las seis de la tarde del 27 del mismo mes se dió muerte a la lagartija. En este animal había pues que esperar fases de cuatro-nueve días.

*L. muralis joven, núm. 20*, recogida a principios de Agosto, en Madrid, alimentada el 9 de Septiembre a las diez y media de la mañana con 40 ninfas repletas de sangre, casi todas ellas intensamente infectadas con quistes de *bicapsulatus*. Esta lagartija fué muerta el 15 del mismo mes, a las diez y media de la mañana; no podía, pues, contener más que fases precisamente de seis días.

Estos ensayos de alimentación demostraron que el intestino delgado de la lagartija en toda su longitud sirve de paso a los esporozoítos para penetrar en la corriente sanguínea; todas las demás partes del aparato digestivo no desempeñan ningún papel a este efecto. Si examinamos las condiciones histológicas del intestino delgado, encontramos que la mucosa forma numerosos pliegues longitudinales, que son muy salientes en la parte anterior y se van haciendo menos salientes hacia atrás. Debajo del epitelio prismático se extiende una capa de tejido conjuntivo, en la que hay dispuesta una red de grandes mallas de fibras musculares. El tejido conjuntivo en cuestión está atravesado por numerosos capilares sanguíneos y fisuras linfáticas. Las pa-

redes de cada pliegue se encuentran generalmente separadas en la parte profunda por grandes espacios linfáticos. Un papel importante representan los linfocitos. Su cantidad varía mucho según las condiciones de alimentación de las lagartijas. Se les encuentra aislados en toda la extensión de la capa de tejido conjuntivo y en las fisuras linfáticas. En algunos sitios se observan agrupaciones mayores, que pueden designarse como nodulitos linfáticos. Estos se encuentran generalmente situados en la base de los pliegues (en parte en la submucosa), pero también se pueden observar más dentro de los mismos pliegues.

En el intestino delgado desembocan juntos y muy cerca del estómago los conductos císticos y pancreáticos. No he encontrado esporozoítos de *Karyolysus* en dichos conductos. Por el contrario, he observado en *L. m. j., núm. 17*, buen número de ellos dentro del epitelio prismático. Estos esporozoítos estaban todos dispuestos perpendicularmente al epitelio, teniendo dirigida hacia la base la extremidad anterior, que contiene la vacuola de la materia de reserva; hecho que demuestra que no permanecen dentro del epitelio, sino que lo atraviesan por el camino más corto. Es difícil determinar si dicha emigración se efectúa atravesando el cuerpo de las células prismáticas o pasando entre ellas. Las imágenes que he visto son, en parte, favorables a la primera suposición y, en parte, a la segunda, por lo cual creo que pueden ser utilizados un camino u otro, o ambos por un mismo esporozoíto.

El único dato que pueda servir aquí para comparación es el que da MOROFF (1907) de *Adelea zonula*, especie parásita del cuerpo adiposo de las larvas del Coleóptero *Blaps mortisaga* y cuyos esporozoítos deben, pues, atravesar el epitelio del intestino grueso en las nuevas infecciones. Según observó MOROFF después de una infección experimental, los esporozoítos se encuentran también en este caso, en parte, dentro de las células epiteliales y, en parte, entre las mismas. En *Hæmogregarina stepanowi*, cuyos esporozoítos atraviesan igualmente la pared intestinal de

la sanguijuela *Placobdella catenigera* (REICHENOW, 1910, página 285), no he podido comprobar nada seguro respecto de la situación de aquéllos, en los pocos casos en que los he encontrado dentro del epitelio.

Cuando los esporozoítos de *Karyolysus* han atravesado la capa epitelial del intestino de las lagartijas, parte de ellos van llegando directamente a los capilares de la sangre y son arrastrados por la corriente sanguínea; los demás atraviesan el tejido conjuntivo de los pliegues de la mucosa, hasta que la casualidad les conduzca igualmente a un vaso sanguíneo, o hasta que sean recogidos por un linfocito. He encontrado en *L. m. j., núm. 17*, estos esporozoítos en gran número, diseminados y libres en el tejido conjuntivo; pero es mucho más frecuente observar los esporozoítos en el interior de linfocitos. Especialmente, los nodulitos linfáticos obran a modo de trampas: a menudo he encontrado en ellos varios parásitos muy cerca unos de otros (lám. V, fig. 67). La incorporación por parte de los linfocitos tiene por consecuencia el que pueda comprobarse la presencia de esporozoítos en la mucosa aun varios días después de la ingestión de los quistes. También he visto en *L. m. j., núm. 18* (es decir, cuatro días después de la última ingestión de quistes) numerosos esporozoítos en los pliegues del intestino delgado; sin embargo, en *L. m. j., núm. 20,* seis días después de la ingestión, ya no los pude encontrar más en dicho sitio. Es especialmente de notar que los linfocitos no perjudican de modo alguno a los parásitos que recogen. En todos los casos — incluso en *L. m. j., número 18,* en el cual los esporozoítos llevaban con seguridad ya varios días dentro de los linfocitos — presentaban aquéllos un aspecto completamente normal (véase fig. 67, lám. V). Por consiguiente, pues, cuando más adelante los parásitos desaparecen del intestino, es resultado de que los linfocitos infectados emigran poco a poco.

Hemos dicho antes que los esporozoítos podían atravesar el epitelio en cualquier sitio del intestino delgado; pero se les

puede encontrar en mayor número en determinados puntos, como el principio del intestino delgado y también donde éste se dobla bruscamente junto a la extremidad del páncreas y donde desemboca en el intestino grueso. Estas situaciones son fáciles de explicar. Los esporozoítos que atraviesan el epitelio al principio del intestino delgado proceden evidentemente de quistes que se han abierto ya en el estómago; los otros dos sitios tienen tal disposición que se produce en ellos una sensible detención del contenido intestinal.

Aun cuando en cada ingestión de ácaros llegaron a los órganos de digestión de las lagartijas muchos miles de esporozoítos, el intestino delgado —que tiene más de un centímetro de longitud — con sus pliegues, constituyó, sin embargo, un vasto campo por el que se fueron esparciendo, y por ello en las preparaciones de cortes hay que buscar ordinariamente durante varios minutos hasta encontrar esporozoítos. En relación con esto, sorprende el hecho de encontrar regularmente varios parásitos próximos unos a otros, ya en el mismo corte, ya en el mismo sitio de los cortes contiguos. Este hecho sólo puede explicarse suponiendo que los esporozoítos, que al salir del quiste se encuentran libres, no permanecen en el contenido del intestino, sino que penetran rápidamente en la mucosa, quedando por esta causa bastante cerca unos de otros. En oposición a esta opinión, Moroff encontró en *Adelea zonula* que los esporozoítos, después de haber salido de los quistes, permanecían de doce a quince horas libres en el intestino.

Los esporozoítos en el epitelio (lám. V, fig. 66) y los en el tejido conjuntivo, así como los que se encuentran en los linfocitos (lám. V, fig. 67) ofrecen un tamaño todavía igual al de los que están en los quistes. Tampoco pueden descubrirse modificaciones esenciales en su aspecto. En muchos casos se observa junto a la gran vacuola de materia de reserva una o dos más pequeñas que quizás se hayan separado de la primera. El núcleo permite siempre ver fácilmente los cuatro granos redondos de cro-

matina; merece notarse que ahora casi en todos puede comprobarse claramente la presencia del endosoma (lám. V, fig. 66, *b)*.

## 9. Extensión de la infección de *Karyolysus* en la Lagartija

Los esporozoítos que llegaron a los capilares sanguíneos después de atravesar el epitelio del intestino penetran en el hígado por la corriente del sistema de la vena porta. Este mismo camino siguen también — por lo menos en su gran mayoría — los gérmenes encerrados en los linfocitos al pasar a la corriente sanguínea las células que los albergan. Otros llegan quizás al mismo sitio por las vías linfáticas.

He observado frecuentemente esporozoítos encerrados en linfocitos en las vías linfáticas que, saliendo del intestino, atraviesan el páncreas. Las estrechas relaciones del páncreas con el hígado me hacen suponer que estas vías linfáticas continúan por el hígado. He visto también agrupaciones de esporozoítos acá y allá en los nodulitos linfáticos del hígado. Por lo demás, en *L. m. j., núm. 17*—el animal de experimentación con infección de uno a tres días—he encontrado esporozoítos en número bastante grande, en los capilares sanguíneos del hígado, mientras que, por el contrario, no fueron encontrados en otros órganos, incluso en los riñones que fueron examinados con mucha detención en preparaciones de cortes, obteniendo resultado negativo.

Los esporozoítos en el hígado del *L. m. j., núm. 17,* sólo excepcionalmente se observaban libres en los capilares sanguíneos; muchos se encontraban en linfocitos, pero la gran mayoría estaban encerrados en ciertas células pigmentadas, las llamadas «Sternzellen» de Kupffer.

Respecto de dichas células, que han sido observadas en el hígado y bazo de Anfibios, Saurópsidos y Mamíferos, existe una literatura bastante extensa que el lector podrá encontrar en Oppel (1900, pág. 987). El trabajo de mayor importancia es el

de Kupffer (1899), cuyas descripciones han sido recientemente confirmadas y en ciertos puntos ampliadas por Kyes (1915). Mientras que en los vasos grandes del hígado las paredes están constituídas solamente por las típicas células endoteliales aplanadas, se encuentra en los capilares al lado de éstas, pero en menor número, una segunda forma de células abombadas hacia el interior de aquéllos y que contienen un núcleo redondo, vesicular (lám. VI, fig. 75). Dichas células han sido descritas por Kupffer bajo el nombre de «Sternzellen» (células estrelladas). Se encuentran generalmente en ellas granos pardos de pigmento en cantidad variable y a menudo eritrocitos capturados (lámina VI, fig. 76, *e*). Los granos de pigmento proceden de la digestión de los eritrocitos, hecho sobre el que parece haber insistido primero Labbé (1894). La analogía de estas células con las células epiteliales del intestino en los Acaros salta a la vista, y podemos imaginar que parásitos que han adquirido en un patrón cierta resistencia contra tales células, tienen ya condiciones previas favorables para su adaptación al segundo patrón.

La fagocitosis de los glóbulos de la sangre es manifiestamente el papel más importante, pero no el único, de las células estrelladas. Obran también como una especie de nasa que purifica la corriente sanguínea de ciertos cuerpos extraños arrastrados por ella. Por ejemplo, el carmín o el cinabrio inyectados en la corriente sanguínea aparecen luego almacenados en estas células.

Las cortas explicaciones que acabo de dar bastan para hacernos comprender por qué volvemos a encontrar en las células estrelladas los esporozoítos que habían llegado al sistema porta, y cómo es que todos — o casi todos — quedan retenidos ya en el hígado. Evidentemente, los parásitos llegan al interior de las células estrelladas de un modo puramente pasivo, y por esto es más de notar el que no sufren ninguna clase de daño por parte de ellas, como tampoco lo habían experimentado por parte de los linfocitos. Veremos más adelante que fases posteriores

de *Karyolysus* no ofrecen igual resistencia para la actividad digestiva de las células estrelladas.

Los esporozoítos encerrados en las células de Kupffer se parecen en tamaño y aspecto a los que hemos observado en la mucosa del intestino delgado (lám. VI, fig. 75). Permanecen en las células varios días, sin aumentar de volumen durante este tiempo. En *L. m. j., núm. 17,* he encontrado sólo estos mismos esporozoítos no alterados. También en el hígado del *L. m. j., número 20* — por consiguiente a los seis días después de la ingestión — la mayor parte de los esporozoítos presentaban todavía el mismo aspecto; otros, por el contrario, habían abandonado las células estrelladas y pasado a las aplanadas y típicas células endoteliales. En éstas se habían transformado en una forma de reposo, más corta y ancha, y habían empezado a crecer. En la fig. 68 (lám. V) he representado una de las fases más adelantadas que encontré en la lagartija mencionada. La célula patrón no presenta su forma típica, pues la imagen procede de una preparación por disociación mecánica. Encontramos en el protoplasma de los parásitos la laguna de materia de reserva descompuesta en cierto número de vacuolas, el núcleo tiene ahora una forma claramente vesicular, el endosoma ha crecido notablemente, pero se ha mantenido como antes el número de cuatro de las unidades de cromatina. Estas dejan ahora reconocer perfectamente que están constituídas por granitos muy apretados y, en relación con ello, en vez de presentar forma redonda, la presentan cúbica.

La penetración del esporozoíto en una célula endotelial es el punto más saliente del desarrollo de las especies de *Karyolysus* en los Lacértidos. En dicha célula se realiza el crecimiento y la esquizogonía, volviendo a emigrar a nuevas células endoteliales los merozoítos que quedan en libertad. Prescindiendo de algunas excepciones de las que hablaremos más tarde, todo el desarrollo del *Karyolysus* se efectúa en el endotelio de los vasos sanguíneos y sólo los merozoítos sexualmente diferenciados eli-

gen por célula patrón un eritrocito. Vemos que *Karyolysus*, lo mismo que en el Acaro, conserva en el Lacértido el carácter de parasitismo en tejidos epiteliales, general en los Coccidios. En cuanto a los puntos de vista filogenéticos y otros que resultan de este conocimiento, trataré de ellos detenidamente en las partes segunda y tercera del presente trabajo.

Podemos seguir el desarrollo posterior de los esporozoítos en *L. m. j., núm. 18,* en la cual encontramos fases hasta de nueve días. Habiendo tardado los esporozoítos unos cinco o seis días hasta dar el primer paso para continuar su desarrollo, sorprende que después el crecimiento y la esquizogonía se verifiquen con gran rapidez. Encontramos en el hígado al lado de los esporozoítos descritos de las *L. m. j., núms. 17 y 20* todas las fases de crecimiento y esquizogonía hasta la formación completa de los merozoítos. Debido al gran número de ácaros que habían sido ingeridos por esta lagartija, resulta muy intensa la infección de *Karyolysus*. He reunido en el cuadro de la página siguiente 100 fases de desarrollo, tal como han ido apareciendo en una revisión de cortes de hígado.

He designado en este cuadro con el nombre de «quistes uninucleares» todos los parásitos que — como indica la fig. 68 (lámina V) — han tomado ya la forma ancha de reposo, aunque no se pueda observar todavía la membrana en estas fases jóvenes. Durante el crecimiento posterior de estas formas, el endosoma aumenta mucho de tamaño, mientras que no aparece modificación alguna en el aspecto de la cromatina (lám. V, fig. 69). Después de un pequeño aumento de tamaño de los parásitos empieza la división del núcleo, en la cual — lo mismo que en la esporogonía — se divide también el endosoma (lám. VI, fig. 79). Si comparamos esta imagen con la de los esquizontes maduros (lámina VI, fig. 81), encontramos que el crecimiento antes de empezar las divisiones de núcleo es muy pequeño en relación al aumento enorme que sufre el esquizonte durante la multiplicación nuclear.

Antes ya de empezar las divisiones nucleares se rodea el esquizonte de una membrana que muy pronto se vuelve tan fuerte que en preparaciones por disociación mecánica sólo se obtiene una coloración incompleta de los quistes, aun dejando obrar durante mucho tiempo la materia colorante. En preparaciones de cortes se puede conseguir una buena coloración, pero no re-

HÍGADO DE LA *Lacerta muralis* JOVEN NÚM. 18

| QUISTES | TOTAL | De ellos han terminado la multiplicación nuclear: | De éstos han formado merozoítos: |
|---|---|---|---|
| Uninucleares.......... | 11 | — | — |
| 1.er período de división. (2 núcleos). | 3 | — | — |
| 2.º período de división... (4 núcleos). | 8 | — | — |
| 3.er período de división.. (5-8 núcleos). | 7 | 2 | 1 |
| 4.º período de división... (9-16 núcleos). | 20 | 3 | 2 |
| 5.º período de división... (17-32 núcleos). | 20 | 3 | — |
| 6.º período de división... (33-64 núcleos). | 13 | 4 | 2 |
| 7.º período de división... (65-128 núcleos). | 18 | 10 | 1 |
| | 100 | 22 | 6 |

sulta en ellas tan buena la conservación como la que se puede alcanzar en las fases de la esporogonía anteriormente descritas. Lo que se puede observar en las divisiones nucleares de la esquizogonía, coincide con lo que se dijo ya para *K. lacertæ*. Las relaciones de la cromatina evidentemente coinciden por completo con las observadas en las divisiones de la esporogonía. Prescindo, pues, de entrar en más detalles y mencionaré sólo

que el endosoma subsiste también constantemente durante la esquizogonía.

El número de merozoítos que llegan a formarse y, en relación con ello, el tamaño de los esquizontes maduros es extraordinariamente variable. El número menor de merozoítos que pude observar fué 8 (véase fig. 80, lám. VI), el mayor 188; la figura 81 (lám. VI) representa un corte del quiste que contenía este último número. El examen del cuadro de *L. m. j., núm. 18*, nos demuestra el hecho notable de que esta gran diferencia aparece ya entre los esquizontes procedentes de los esporozoítos y que no depende en nada de la edad de la infección. Al

HÍGADO DE LA *Lacerta muralis* JOVEN NÚM. 2

| QUISTES | TOTAL | De ellos han terminado la multiplicación nuclear: | De éstos han formado merozoítos: |
|---|---|---|---|
| Uninucleares.......... | 12 | — | — |
| 1.er período de división.. (2 núcleos). | 3 | — | — |
| 2.º período de división... (4 núcleos). | 2 | — | — |
| 3.er período de división.. (5-8 núcleos). | 3 | — | — |
| 4.º período de división... (9-16 núcleos). | 11 | 8 | 8 |
| 5.º período de división... (17-32 núcleos). | 22 | 19 | 17 |
| 6.º período de división... (33-64 núcleos). | 32 | 28 | 23 |
| 7.º período de división... (65-128 núcleos). | 14 | 14 | 12 |
| 8.º período de división... (más de 128 núcleos). | 1 | 1 | 1 |
| | 100 | 70 | 61 |

afirmar que todas las fases de esquizogonía que aparecen en esta lagartija (*L. m. j., núm. 18*) derivan exclusivamente de los esporozoítos, lo deduzco de la falta absoluta de merozoítos libres, qué se podrían distinguir de los numerosos esporozoítos presentes en las preparaciones por la carencia de la gran vacuola de materia de reserva.

Podría oponer a esto que cómo puede explicarse el hecho de que los merozoítos formados en corto número — unos 8 a 16 — no se hayan separado ya hace tiempo, mientras que en esquizontes de igual edad se efectúa un crecimiento notablemente mayor y la formación de más de 100 merozoítos. La explicación estriba en que los merozoítos permanecen juntos en el quiste aun mucho tiempo después de su formación. Evidentemente viven allí a expensas del residuo, que al principio aparece de volumen considerable y poco a poco se va desgastando y pueden crecer entretanto hasta cierto grado. Tendremos que insistir en el próximo capítulo acerca de la diferencia de tamaño entre los merozoítos.

Esta tendencia de los merozoítos a permanecer bastante tiempo en el quiste materno—que indiqué también en *K. lacertæ*— no es particularidad exclusiva de *Karyolysus*; se encuentra bastante generalizada en los Coccidios. SCHELLACK y yo hemos insistido especialmente sobre este hecho en *Barrouxia schneideri*. Si consideramos esta cuestión en *K. bicapsulatus*, encontramos en *L. m. j., núm. 18*, sólo un 6 por 100 de quistes maduros, puesto que en esta infección reciente no han llegado todavía más que muy pocos esquizontes al término de su desarrollo. El caso es muy diferente si comparamos el cuadro segundo (página 107) referente a una lagartija con infección muy avanzada. *L. m. j., núm. 2*, fué matada unos quince días después de la primera aparición de formas intraglobulares en la sangre de la cola; la infección de dicho animal se eleva, pues, a unos dos meses. En este caso los quistes con merozoítos completamente formados constituyen nada menos que el 61 por 100 de la totalidad de

las fases de multiplicación. De donde resulta que los merozoítos permanecen juntos en el quiste materno durante mayor espacio de tiempo del necesario para que el merozoíto se desarrolle hasta quiste maduro.

Arriba he insistido especialmente sobre la circunstancia de que el crecimiento principal del esquizonte se efectúa sólo después de empezar la multiplicación nuclear. En oposición a ello, SCHAUDINN se expresa del modo siguiente en su resumen del ciclo vital de *Eimeria schubergi (Arbeiten*, pág. 218): «Derselbe — el esporozoíto — wächst, nachdem er in eine Darmepithelzelle sich eingenistet hat, zu einer kugligen Zelle, dem ausgebildeten Coccidium, heran..... Am Ende ihres vegetativen Lebens zerfällt die erwachsene Coccidie, nachdem sich ihr Kern durch wiederholte Zweiteilung vermehrt hat, in eine verschieden grosse Anzahl von Teilstücken.....» Junto con el ciclo vital de esta especie, ha pasado a todos los tratados y manuales la idea del *erwachsenen Coccidium* (coccidio adulto).

Investigadores posteriores del desarrollo de Coccidios han llamado repetidas veces la atención sobre el hecho de que, en las especies que tenían a la vista, notábase aún durante la multiplicación nuclear, un crecimiento más o menos sensible, (véanse sobre este particular las opiniones de SCHELLACK y REICHENOW [1913, pág. 47] y las de LÉGER y DUBOSC [1917]). Parece que no se encuentra, de hecho, como regla, en ningún Coccidio que el esquizonte crezca hasta su tamaño definitivo antes de empezar las multiplicaciones nucleares. El mismo SCHAUDINN ha observado también en *Eimeria schubergi* multiplicaciones nucleares en individuos todavía poco crecidos (véanse sus figuras 17-19), y parece que, sólo por olvido, no mencionó también estas fases en su resumen del ciclo vital.

La importancia del punto aquí tratado nos resultará en seguida evidente si queremos designar, según el ejemplo de DOFLEIN *(Lehrbuch)*, como «el coccidio», una fase determinada del desarrollo, para que, no — como dice acertadamente el citado

autor — «vor lauter Stadien das Tier selbst verschwindet». Ahora bien; DOFLEIN, conforme con la mencionada exposición de SCHAUDINN, ve «el coccidio» en la célula oval o esférica privada de movimiento, que nos ofrecen las diferentes especies inmediatamente antes de comenzar la multiplicación nuclear.

Yo creo—y los resultados de la investigación en *Karyolysus* lo demuestran de un modo especialmente claro—que las formas que, al contrario de las otras, manifiestan cierta constancia y que por ello han de considerarse como los representantes de la especie, son los pequeños vermículos móviles, los esporozoítos y merozoítos.

Es un hecho conocido, desde hace tiempo, que los esporozoítos pueden permanecer mucho tiempo en su quiste sin sufrir modificación alguna; pero los ensayos de alimentación con *Karyolysus* nos han hecho ver que aquéllos pueden conservar también su tamaño y forma varios días después de su diseminación y llegada a destino. Hemos podido comprobar este modo de conducirse en los merozoítos dentro de la envoltura del quiste; es difícil determinar si, después de haber abandonado la envoltura, permanecen todavía mucho tiempo sin modificarse; su menor resistencia a los fagocitos de la Lagartija, particularidad sobre la que hemos de volver más tarde, es un argumento en contra de una vida libre más larga. La facultad que tienen los merozoítos de conservarse largo tiempo sin modificarse es mayor cuando se nos presentan como formas sexualmente diferenciadas.

Los macrogametos y microgametocitos, que se conservan, cuando menos, durante meses dentro de los eritrocitos, retienen permanentemente el carácter vermicular de los merozoítos, y es en esta forma como los observamos todavía en el intestino del Acaro.

Al revés de lo que ocurre en los parásitos vermiculares, las modificaciones se realizan con gran rapidez tan pronto como aquéllos se han transformado en la fase inmóvil de esquizonte.

Los dos cuadros coinciden en mostrar que los esquizontes *uninucleares* representan sólo un pequeño tanto por ciento del total de las fases de desarrollo, que no hay, pues, aquí ningún estado duradero y que el crecimiento de estas formas debe considerarse solamente como preludio de la multiplicación nuclear. La comparación del estado de cosas en *L. m. j., núms. 18 y 20* nos enseña que todo el proceso de la esquizogonía puede desarrollarse en el corto espacio de tiempo de tres a cuatro días, y en la esporogonía (en *K. biretortus*) hemos observado un curso aún más rápido.

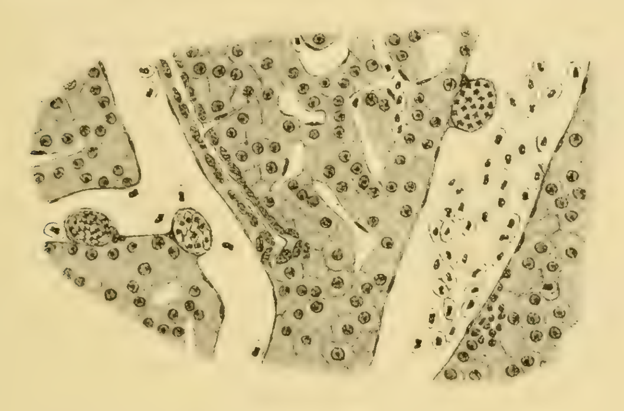


Figura M.
Corte del hígado de una lagartija con dos vasos sanguíneos cuyo endotelio contiene fases de *Karyolysus*. × 300.

En conexión con la rapidez de desarrollo, llamaremos también la atención sobre el tanto por ciento, notablemente pequeño, de esquizontes de 2-8 núcleos que aparece en ambos cuadros. De ello se deduce que las primeras divisiones nucleares se suceden más rápidamente que las posteriores.

La situación endotelial de los esquizontes aparece con completa claridad solamente allí donde las fases de desarrollo se encuentran en los vasos *mayores*. El trozo de un corte de hígado de *L. m. j., núm. 2*, que he representado en la figura M, muestra dos de estos vasos cortados longitudinalmente. En el

de la izquierda vemos dos quistes maduros con merozoítos, y en el de la derecha un esquizonte plurinuclear situado en la pared del vaso. Los parásitos, junto con su célula patrón que los envuelve como una película delgada, avanzan notablemente en la luz del vaso. Cuanto mayores son los vasos, tanto menos frecuente es que se encuentran esquizontes de *Karyolysus* en su pared y, además, predominan entonces las fases más jóvenes. No he observado ninguna fase de desarrollo en la vena porta. Por el contrario, las fases de esquizogonía se encuentran con especial frecuencia en los capilares. Como en este caso suelen llenar completamente la luz del vaso, muchas veces resulta difícil distinguir en cada caso si aquéllos se encuentran en la pared del capilar, o si junto con su célula patrón — cuya presencia puede siempre comprobarse en las preparaciones de cortes — se encuentran libres en la luz del capilar.

Es indudable que una gran parte de las fases que se encuentran en los capilares sanguíneos han sido arrastradas allí por la corriente sanguínea y han quedado detenidas a consecuencia de la estrechez del vaso. Se puede, en efecto, comprobar que muchas de las células endoteliales infectadas se desprenden de la pared del vaso. Se encuentran accidentalmente estas células endoteliales, no sólo con quistes completa o casi completamente maduros, sino también con esquizontes todavía uninucleares, libres en los vasos entre los glóbulos de la sangre. Si consideramos en la figura el obstáculo que los parásitos forman en los vasos para la circulación de la sangre, podemos representarnos fácilmente que la presión sanguínea debe desempeñar un papel importante en el desprendimiento de los esquizontes. Esta fuerza será tanto más potente cuanto mayor sea el vaso.

Reconocemos en estos procesos el camino más importante que conduce a la difusión del *Karyolysus* por todo el cuerpo de la lagartija. Los merozoítos que salen de los quistes desempeñan aquí, sin duda, un papel mucho menos importante, puesto que evidentemente, como antes se indicó, no están capacitados para

una larga vida extracelular, a causa del peligro que les amenaza de parte de los fagocitos. Aun en las infecciones intensas, muy rara vez se les encuentra libres en la corriente sanguínea.

Aquí surge la cuestión de si los esporozoítos — dado que para ellos no sirven las limitaciones que se han hecho valer para los merozoítos — pueden llevar la infección más allá del hígado. Podemos suponer que no todos los esporozoítos se establecen ya en el hígado, ante todo porque es evidente que pueden, sin dificultad, emigrar de nuevo de las células estrelladas que los capturaron a su paso por la corriente sanguínea del sistema capilar del hígado. La sangre que ha recorrido el sistema capilar del hígado se reune en la vena hepática y va por la vena cava inferior al corazón. En éste es, pues, donde tenemos que buscar aún parásitos; y, en efecto, he encontrado en *L. m. j., núm. 18,* numerosas fases de desarrollo en el ventrículo, pero ninguna en la aurícula.



Figura N.
Corte de la pared ventricular de una Lagartija. En el endotelio que limita los espacios entre los músculos, se encuentra un esquizonte de *Karyolysus.* × 625.

La pared ventricular de la Lagartija está constituída en su parte interna por un extenso armazón esponjoso de haces musculares cuyos espacios capilares representan prolongaciones de la cavidad central del ventrículo. En el endotelio que limita estos espacios o hendiduras que quedan entre los haces musculares, he encontrado las fases de esquizogonía. Vemos en la figura N dos haces de músculos cortados casi longitudinalmente y un tercer haz cortado transversalmente; en el endotelio que envuelve este último, una célula contiene un esquizonte con cuatro núcleos. Es muy de notar que aparecen aquí en general fases jóvenes, la mayor parte de ellas uninucleares, encontrándose con bas-

tante frecuencia fases de dos y cuatro núcleos y rara vez de ocho. Es evidente que aquí, por el activo movimiento de la sangre, los esquizontes son arrancados relativamente pronto. No se encuentran sitios en el ventrículo — como los hay en los capilares de los órganos — donde esos esquizontes libres sean retenidos, pues los espacios o hendiduras que quedan entre los haces musculares cambian constante y notablemente de volumen a consecuencia de las contracciones rítmicas de los músculos. Sólo una vez he encontrado — examinando en cortes la mitad del ventrículo — un esquizonte más adelantado. Este esquizonte, que contenía unos 100 núcleos, estaba situado en la profundidad del armazón muscular, inmediatamente debajo del epicardio, es decir, en un sitio en que el movimiento de la sangre puede ejercer la influencia menor en la célula endotelial infectada.

La circunstancia de que no encontremos fases de desarrollo en las aurículas se explica por el débil desarrollo del armazón muscular en estos órganos de paredes delgadas, y también porque el cambio de sangre se efectúa mucho más activamente en ellos, pues en cada contracción de las aurículas casi toda la cantidad de sangre queda expulsada.

Naturalmente, tampoco en el corazón llegan a establecerse todos los esporozoítos; pero los que continúan adelante con la corriente sanguínea se esparcen de tal manera por el cuerpo entero, que, a pesar de la fuerte infección, no podemos ya contar con encontrarlos en parte alguna.

No sucede lo mismo con los esquizontes que se han desprendido de la pared de los vasos, en el corazón o en cualquiera otra parte. De ellos podemos esperar que se reunan en sitios del cuerpo de la Lagartija en que existen extensos sistemas capilares. En *L. m. j., núm. 18,* los he encontrado investigando también los riñones y pulmones.

Muy instructivas son las imágenes que observamos en los riñones de este animal de experimentación. A excepción de un sólo esquizonte uninuclear que encontré libre con su célula en-

dotelial en uno de los vasos mayores de los riñones, todas las fases de desarrollo se encuentran allí situadas en los capilares. En ningún caso se puede comprobar una fijación en la pared del endotelio. Se trata manifiestamente, en general, de parásitos que han sido acarreados al sistema capilar de los riñones, ya en fase de esquizontes. Por esto encontramos casi exclusivamente esquizontes adelantados; los uninucleares son raros y los esporozoítos típicos faltan por completo.

Finalmente, indicaré que, al practicar una investigación detenida del intestino, encontré una vez, en un capilar de la submucosa, un quiste con unos 30 núcleos. Puesto que—como queda dicho—no ocurre en el intestino desarrollo alguno de los esporozoítos, indudablemente también se trata en este caso de un esquizonte arrastrado hasta allí ulteriormente.

Los parásitos que han llegado a una parte determinada del cuerpo continúan allí, naturalmente, su desarrollo y propagación. Así, por ejemplo, el riñón de *L. m. j., núm. 2,* nos ofrece una imagen muy diferente de la descrita anteriormente de *L. m. j., núm. 18.* En él encontramos numerosos merozoítos dispersos, así como esquizontes de todas las edades, que están situados claramente en las paredes de los vasos.

Es muy llamativo el que, tanto en *L. m. j., núm. 18,* como en *L. m. j., núm. 2,* he encontrado en el pulmón tan sólo fases aisladas de desarrollo. Podría atribuirse este hecho a que la presión sanguínea es mucho mayor en la circulación menor, si en otras especies de *Karyolysus* — por ejemplo, en *K. birctortus,* del que pronto trataremos — las formas de la esquizogonía no fuesen especialmente frecuentes precisamente en el pulmón. En este hecho deben, pues, influir también otras circunstancias.

Cuando la infección de *Karyolysus* ha llegado a su apogeo, podemos encontrar fases de multiplicación en cierto número, casi en cualquier parte del cuerpo de la Lagartija. En *L. m. j., número 2,* por ejemplo, he hallado unos pocos esquizontes en el bazo y páncreas. Pero hay excepciones notables. En el ce-

rebro, a pesar de que se distingue por un sistema capilar especialmente fino, no he podido encontrar ni un sólo esquizonte. No puedo decir cómo deba explicarse esta falta; pero es seguro que tiene una gran importancia para el patrón, pues en los casos de infección intensa los grandes quistes de *Karyolysus* ejercerían una acción desastrosa en los capilares del cerebro. Tampoco he observado fase alguna de multiplicación en la médula de los huesos de *L. m. j., núm. 2,* lo que es tanto más notable, cuanto que para otras especies de Coccidios — por ejemplo, para *Hæmogregarina stepanowi* — la médula ósea es precisamente el sitio de las fases de multiplicación.

Cuanto más antigua es la infección, tanto más numerosas son, naturalmente, las formas de esquizogonía, aun en las partes periféricas del sistema vascular sanguíneo. Se las encuentra con frecuencia en las preparaciones que se han hecho con la sangre sacada por presión de la extremidad de la cola. Es evidente que, en los vasos que atraviesan la musculatura de la cola, las condiciones han de ser especialmente favorables para la esquizogonía, pues, en ellos, el movimiento de la sangre es más débil que en ningún otro punto del cuerpo de la Lagartija.

Hasta ahora, en la exposición del desarrollo de *Karyolysus* en la Lagartija, me he limitado al *K. bicapsulatus,* porque en esta especie he investigado las relaciones con más detenimiento y porque todas las especies muestran gran semejanza en los puntos que acabo de discutir. Para dar un nuevo ejemplo, no sólo de otra especie de parásito, sino también de otra especie de patrón, y además para exponer por completo el desarrollo de *K. biretortus,* diremos todavía algunas palabras respecto de esta especie.

*K. biretortus* se nos presenta en *Lacerta viridis* igualmente como un parásito endotélico de todo el sistema vascular sanguíneo. He hecho el estudio comparativo de los fenómenos de infección en un lagarto adulto, con infección intensa de época indeterminada, y en un lagarto joven que fué fijado dos sema-

nas después de la primera aparición de parásitos en los eritrocitos de la sangre de la cola. Esta joven *L. viridis* había sido alimentada, cuarenta días antes de la comprobación de parásitos, con 46 ninfas infectadas, *pero estando éstas en ayunas*. Queda dudoso si la muy débil infección de este lagarto debe atribuírse a la alimentación (véase pág. 95); favorable a esta opinión sería el hecho de que otras cuatro *viridis* jóvenes, que fueron cogidas en el mismo lugar y al mismo tiempo — cuatro días antes de la referida alimentación — permanecieron libres de parásitos. Para el caso, esta cuestión es de poca importancia, puesto que el lagartito tenía sólo pocos días de edad cuando fué capturado — ocho días antes no había aún ninguno en el mismo lugar — y, por consiguiente, debía la infección haberse efectuado inmediatamente antes de la captura.

Los resultados obtenidos en la investigación detenida de ambos lagartos fueron concordantes. He mencionado ya, como particularidad de *bicapsulatus*, el que las fases de esquizogonía se encuentran con más frecuencia en los pulmones. Además, hay que señalar que aquéllas aparecen también en la médula de los huesos, donde los he encontrado muy abundantes, especialmente en la *viridis* adulta. Por otra parte, no han faltado los esquizontes en los riñones, hígado, bazo, páncreas, ni tampoco en el corazón. Añadamos que Laveran y Pettit (1908) — quienes en las *L. viridis* que investigaron tuvieron ante sí, indudablemente, el *K. biretortus*, aunque no reconocieron la independencia de la especie (insistiremos sobre el particular en la parte segunda del presente trabajo) — han observado lo siguiente respecto a la presencia de fases de multiplicación: en tres *L. viridis* encontraron fases de esquizogonía tres veces en el hígado, dos en el riñón y pulmón y ninguna en el bazo y médula ósea.

Contra lo que ocurre con *bicapsulatus*, no se puede distinguir el número de cromosomas en los núcleos de los merozoítos y de los esquizontes uninucleares de *K. biretortus* (lám. VI, figu-

ras 82-84); como en los esporozoítos encontramos también siempre numerosos granos de cromatina. En cambio, en las divisiones nucleares, algunas veces he visto también en la esquizogonía la disposición filiforme de la cromatina, pues en esta especie algunos esquizontes se tiñen bien en preparaciones por disociación mecánica (lám. VI, fig. 85). Pero tampoco aquí puede calcularse con seguridad el número de cromosomas. La figura 85 (lámina VI) nos muestra además—lo mismo que la figura 47 de mi trabajo sobre *K. lacertæ*—que la división del endosoma se efectúa siempre después que los cromosomas se han distanciado ya unos de otros.

El número de merozoítos en que puede descomponerse un esquizonte es notablemente menor que en *bicapsulatus;* sólo por excepción excede de 64. Por el contrario, he encontrado con frecuencia menos de 8 merozoítos, y hasta una vez sólo 2 con el residuo en un quiste (lám. VII, fig. 99). Se pueden distinguir dos formas muy diferentes en los merozoítos ya constituídos y aun también en los que empiezan a separarse. De la significación de este dimorfismo trataremos en el próximo capítulo.

## 10. Agamogonía y gamogonía

Según que de una esquizogonía resulten coccidios que se desarrollan, convirtiéndose de nuevo en esquizontes o coccidios tales que se conviertan en formas sexualmente diferenciadas, tenemos que distinguir dos procesos diferentes, para los que Hartmann ha propuesto las expresiones de *agamogonía* y *gamogonía*. Esta distinción es tanto más necesaria cuanto que hay Coccidios en los cuales ya los esquizontes correspondientes muestran diferencias. En *Hæmogregarina stepanowi* he indicado que los esquizontes de los cuales salen los jóvenes gametos, se distinguen claramente durante todo su desarrollo de los esquizontes, que se descomponen en merozoítos asexuales. La misma observación ha hecho Robertson (1910) en *H. nicoriæ*.

Observaciones análogas han hecho Léger y Duboscq (1910)

en *Selenococcidium intermedium*, y parece que es éste el único caso de esta clase en los Coccidios que no viven en la sangre. No se debe confundir éste con el hecho frecuentemente citado de otra clase de diferencia entre los esquizontes — o también entre los merozoítos — que muchos investigadores de Coccidios han creído encontrar. Se trata en estos casos de una diferenciación sexual, es decir, de una diferencia entre individuos machos y hembras, ya desde el comienzo de la esquizogonía (*Cyclospora caryolytica*, SCHAUDINN, 1902), ya por lo menos desde varias generaciones antes de empezar los fenómenos de fecundación (*Adelea ovata*, SIEDLECKI, 1899; *Chagasella hartmanni*, CHAGAS, 1910, y numerosas «Hemogregarinas»). Esta diferenciación sexual no está verdaderamente comprobada en ninguno de los casos: aun en aquellos en que no se trata de la confusión de dos especies, como en *A. ovata*, no se ha tenido en cuenta la circunstancia antes mencionada (pág. 108) de que los merozoítos permanecen mucho tiempo juntos y que entretanto pueden cambiar de tamaño y de forma. En todos los casos en que, según las indicaciones del investigador, la diferenciación no empieza ya desde el principio, sino que aparece solamente en el transcurso del desarrollo, se suscita naturalmente también la cuestión de si en lugar de una diferencia entre formas masculinas y femeninas, no estamos en presencia de una diferenciación entre agamogonía y gamogonía. Estas dos consideraciones críticas han de tenerse especialmente en cuenta en los numerosos casos en los cuales encontramos en la literatura de los Hemococcidios («Hemogregarinas» en el sentido antiguo) la distinción de macroquistes y microquistes con sus correspondientes gérmenes.

En contraposición a lo que ocurre en *H. stepanowi*, he observado en *K. lacertæ* que las diferencias entre los merozoítos asexuados y los gametocitos aparecen sólo después de la formación de los gérmenes. Entre los esquizontes puede establecerse únicamente una diferencia, la de que después de terminarse las divisiones nucleares en esquizontes de igual tamaño, el número

de gérmenes es mayor en la gamogonía que en la agamogonía. Pasemos ahora a las particularidades de las dos especies que nos sirven de ejemplo en la presente investigación.

Cuando en un esquizonte de *K. bicapsulatus* queda formado el número definitivo de núcleos, la cromatina toma la forma característica que hemos observado ya algunas veces: se aglomera en cuatro formaciones esféricas, manifiestamente distinguibles unas de otras, al lado de las cuales no puede siempre comprobarse claramente la presencia del pequeño y pálido endosoma. La misma forma de núcleo (lám. VI, figs. 80 y 81) conservan también los merozoítos ya formados. Es verdad que se encuentran también núcleos con más de cuatro granos de cromatina, una parte de los cuales se distingue en este caso por su menor tamaño (véanse las figuras más arriba indicadas); sin embargo, una observación comparada nos enseña que esta variación consiste sólo en que alguna de las unidades de cromatina ha tomado una forma menos compacta. Tales núcleos no denotan esquizontes especiales; por el contrario, en todos los esquizontes (o en los haces de merozoítos) la mayor parte de núcleos muestran la estructura típica. De aquí se sigue que no existe diferencia en las relaciones de la cromatina entre los merozoítos asexuados y los gametos jóvenes.

Como por las investigaciones realizadas por Schellack y por mí, ya juntos, ya separadamente, en numerosas especies de Coccidios *(Adelea ovata, Adelina dimidiata, Hæmogregarina stepanowi, Karyolysus lacertæ, Barrouxia schneideri, Eimeria lacazei* y *E. schubergi),* ha quedado demostrado suficientemente que en ningún caso se efectúa una reducción de cromatina en los macrogametos antes de la fecundación (1); hemos defendido repetidas veces la opinión de que la reducción debe

(1) Sólo las divisiones reductoras descritas por Schaudinn en *Cyclospora caryolytica* no están todavía bien aclaradas, necesitando comprobación.

tener ya lugar durante las divisiones nucleares que conducen a la formación de los jóvenes gametocitos. Las clarísimas imágenes de cromosomas en *bicapsulatus* hubieron de convencerme de que es insostenible aquella opinión y me han conducido necesariamente — aun antes de que me fuese conocida la investigación realizada por DOBELL y JAMESON en *Aggregata* — a buscar la reducción de núcleo en una fase posterior a la fecundación.

Sigamos, pues, examinando las diferencias que se pueden encontrar en los esquizontes. Cuando el número de núcleos en un esquizonte maduro es pequeño, se encuentran todos inmediatamente debajo de la superficie del cuerpo celular; por el contrario, siendo su número elevado, encontramos los núcleos a cualquier profundidad de la célula. Este hecho se explica de este modo: en los esquizontes grandes se producen resquebrajaduras y, a consecuencia de ello, la superficie se continúa hacia dentro. Cuando el número de núcleos es relativamente poco grande (unos 64), las resquebrajaduras son pequeñas; pero cuando hay 100 núcleos o más, entonces se extienden a todo el cuerpo. Estas imágenes recuerdan mucho los procesos de división en las Gregarinas. Es evidente que esta diferencia entre esquizontes pequeños y grandes no tiene importancia alguna especial y que no es otra cosa que la consecuencia de la diferencia de tamaño: el número de núcleos producidos es proporcional al volumen; y como el cuerpo mayor tiene una superficie relativamente menor, ésta no ofrece ya sitio suficiente para todos los núcleos presentes y debe por ello ser aumentada por las resquebrajaduras de la célula.

Los merozoítos, lo mismo que en la estructura del núcleo, tampoco muestran diferencias características en el resto de su conformación; pero en su tamaño notamos, por el contrario, una variedad grande en los diferentes esquizontes. Cuando los gérmenes se separan del residuo, son ya de tamaño algo distintos. Pero estas diferencias aumentan por el hecho de que parte de los merozoítos crecen de un modo notable dentro del quiste.

Debido a ello, el residuo, que al principio siempre existe, queda consumido más o menos completamente. Podemos designar con precisión como *merozoítos asexuados* aquellos gérmenes cuyo crecimiento ha sido notable, pues el pequeño tamaño de

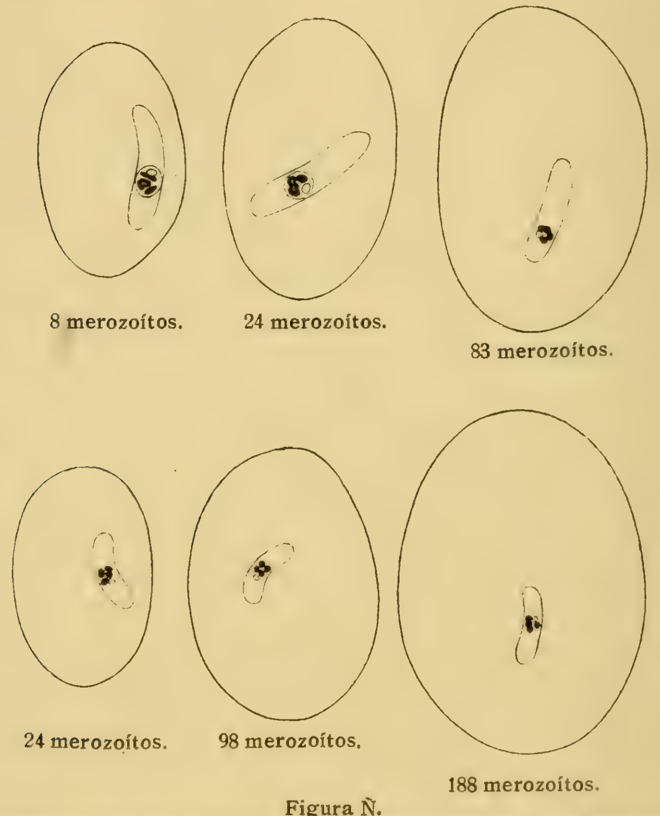



Figura Ñ.

Seis quistes de esquizogonía de *K. bicapsulatus*. En cada quiste está dibujado un merozoíto como ejemplo de su tamaño. × 1.800.

los gametocitos jóvenes que han penetrado recientemente en los glóbulos de la sangre (lám. VII, fig. 90) nos indica que éstos, mientras que están juntos dentro del quiste, crecen muy poco o absolutamente nada. Pero como indican los merozoítos representados en la figura Ñ, observamos en los quistes todas las tran-

siciones de tamaño, de modo que por éste tampoco resulta posible establecer una distinción absoluta entre las formas sexuadas y asexuadas.

De la comparación de los seis quistes representados en la figura Ñ, deducimos otra diferencia entre agamogonía y gamogonía, que consiste en que, en quistes de tamaño próximamente igual, el número de merozoítos es notablemente mayor cuando se trata de gametocitos. Esta observación se confirma por la circunstancia de que los quistes tales como los de la serie inferior, que en relación a su tamaño contienen muy numerosos merozoítos, no aparecen en absoluto en la lagartija de experimentación *L. m. j., núm. 18,* es decir, en una infección reciente. De ello deducimos que en un esquizonte, cuando la esquizogonía conduce a la formación de gametocitos, ocurren uno o dos períodos más de divisiones nucleares que los que ocurren, a igualdad de tamaño, cuando se producen merozoítos asexuados. Coincide bien con esta afirmación el que, en los cuadros de las págs. 106 y 107 encontramos tan sólo siete períodos de división en *L. m. j., núm. 18* y por el contrario ocho en *L. m. j., núm. 2.*

Si en los merozoítos jóvenes nos es imposible establecer una distinción precisa entre los asexuados y sexuados, casi no necesitamos añadir que tampoco se pueden distinguir al principio formas masculinas y femeninas. El estado de cosas referido para *K. bicapsulatus* es, en general, muy semejante al que encontré anteriormente en *K. lacertæ,* sólo que en *bicapsulatus* la diferencia entre formas asexuadas y sexuadas es todavía menor que en *lacertæ,* pues en éste se distinguen de los gametocitos los merozoítos asexuados crecidos no sólo por su tamaño, sino también por su forma más ancha, su núcleo más suelto y su gran endosoma (véanse las figs. 49 y 50 de mi trabajo anterior).

Resulta muy instructivo considerar las mismas relaciones en *K. biretortus.* No podemos fijar en esta especie el número de cromosomas en los merozoítos, pues encontramos que sus núcleos están siempre compuestos de numerosos gránulos de cromati-

na. Es verdad que los gránulos muestran muchas veces una disposición claramente filamentosa (lám. VI, figs. 82 y 87) — especialmente bien perceptible con la coloración de Giemsa (lámina VII, figs. 98 y 99) —, de lo cual podemos deducir que los cromosomas aparecen también aquí de un modo organizado; sin embargo, no es posible fijar su número. En contraposición a los resultados obtenidos en *bicapsulatus*, podemos en *biretortus* distinguir siempre claramente por la forma del cuerpo, merozoítos asexuados y gametocitos jóvenes (lám. VI, figs. 87 y 89). A longitud próximamente igual, los últimos tienen sólo algo más de la mitad de anchura que los primeros. A consecuencia de esta forma delgada, el núcleo de los gametocitos resulta más alargado y el endosoma se encuentra de tal modo oculto entre los apretados gránulos de cromatina que generalmente no se puede comprobar con seguridad su presencia en los gérmenes que están todavía juntos en el quiste. Los gruesos merozoítos asexuados tienen, por el contrario, un núcleo esférico que no ocupa toda la anchura de la célula y en cuyo borde podemos siempre descubrir fácilmente el endosoma. La semejanza de los gametocitos jóvenes con los esporozoítos (lám. V, fig. 74) salta a la vista.

Las diferencias indicadas entre formas asexuadas y sexuadas pueden reconocerse ya cuando los gérmenes están todavía separándose del residuo. Este proceso de separación se verifica, como en la esporogonía, en dirección hacia ambos polos del quiste, que es oval (lám. VI, fig. 86); cuando los gérmenes son muy numerosos, la disposición bipolar se transforma en la de abanico (lám. VI, fig. 88). En la formación de los merozoítos asexuados, se desarrollan desde el principio yemas bastante anchas, a las que pasan los núcleos en forma no modificada (lámina VI, fig. 86); en la formación de los gametocitos las yemas son delgadas y, en consecuencia, los núcleos han de tomar desde el principio una forma alargada (lám. VI, fig. 88).

En la agamogonía, el número de gérmenes es, por término medio, menor (2-24) que en la gamogonía (6-64, rara vez

más). Encontramos también en esta especie, en este último caso, un número de gérmenes mayor en proporción al tamaño de los quistes, pero la diferencia es menor que en *bicapsulatus;* un quiste con 24 merozoítos asexuados y otro con 32 gametocitos jóvenes son aproximadamente de igual tamaño.

Los ejemplos de *K. lacertæ, bicapsulatus* y *biretortus* nos enseñan que, en especies próximas, existe una gran variabilidad de grado en las diferencias que se pueden notar entre la agamogonía y gamogonía. En la segunda parte de este trabajo veremos más ejemplos al tratar de las diferentes especies de *Karyolysus.* Queda todavía sin resolver, como se indicó al principio del capítulo, la cuestión de en qué medida se presentan estas diferencias en los Coccidios que no viven en la sangre. Desde luego es seguro que en varios Coccidios escrupulosamente investigados no pueden comprobarse diferencias entre los merozoítos sexuados y asexuados, por ejemplo: en *Eimeria schubergi, Barrouxia schneideri* y *Adelea ovata.* La extensión generalizada de estas diferencias en los Coccidios de la sangre podemos considerarla, por consiguiente, como una adaptación especial, puesto que en este caso los gametocitos jóvenes penetran en células libres de tamaño relativamente pequeño y han de fijar en ellas su residencia duradera.

Si pasamos ahora a la última parte del desarrollo de *Karyolysus* en los Lacértidos, a la infección de los glóbulos de la sangre por los gametocitos jóvenes, debemos desde luego llamar la atención sobre un punto importante: lo mismo *bicapsulatus* que *biretortus* penetran sólo por excepción en un eritrocito *maduro;* por regla general atacan a los eritroblastos o a eritrocitos jóvenes.

Estas formas de células son naturalmente de aspecto muy variable, según su grado de desarrollo. Los eritrocitos jóvenes se distinguen de los maduros por un núcleo mayor y de estructura más suelta; su protoplasma presenta una estructura alveolar (lámina VII, fig. 90) o más o menos homogénea, según el estado

de desarrollo de la hemoglobina (lám. VII, fig. 104); pero aun en los casos en que es completamente homogéneo se tiñe algo por la hematoxilina, por lo cual aparece un poco gris, mientras que el cuerpo de los eritrocitos maduros conserva, con simple coloración de hematoxilina, el color amarillo que tiene en vida (lámina VI, fig. 82). Las fases más jóvenes—eritroblastos—son generalmente de forma redonda, aplanada; rara vez son fusiformes (lám. VII, figs. 98, 102 y 103). Muchas veces no es posible distinguirlos de las células endoteliales desprendidas, que pueden presentar igualmente ambas formas. Podría llegarse a la conclusión de que las células infectadas que albergan esquizontes jóvenes (lám. VI, fig. 83 y lám. VII, fig. 98) son células endoteliales, y que las que contienen gametocitos jóvenes (lámina VII, figs. 101-103) son eritroblastos. En la mayor parte de los casos será exacta esta conclusión, pero no en todos; las preparaciones de cortes muestran que accidentalmente se encuentran también gametocitos en células endoteliales fijas en la pared y, por otra parte, un esquizonte joven puede también, por excepción, penetrar en un eritrocito indubitable (lám. VI, figura 82) (1).

A consecuencia de este modo de conducirse, sucede que en casos de infección intensa encontramos juntos en la misma célula patrón un esquizonte joven y un gametocito. (Las infecciones dobles, y aun triples, de una célula por parásitos en una misma fase son naturalmente mucho más frecuentes). No pocas veces he encontrado en *biretortus* imágenes como la representada en la figura 100 (lám. VII). Es evidente que hallazgos de esta clase son sumamente seductores para ver en ellos la iniciación de un acto sexual (véase MARCEAU, 1901); es preciso co-

---

(1) La degeneración del núcleo en este eritrocito no tiene nada que ver con la infección; se trata aquí, como en el eritrocito que se encuentra en la célula de Kupffer en la figura 76 (lám. VI), de la formación de los llamados «cuerpos de Todd», de que hablaremos en la parte segunda de este trabajo.

nocer las formas verdaderas de conjugación de esta especie (lámina II, figs. 18 y 19) para poder evitar una confusión.

Como en los casos de infección intensa se encuentran en el torrente circulatorio numerosas células endoteliales desprendidas con esquizontes uninucleares y plurinucleares, como además estas células endoteliales son difíciles de distinguir de los glóbulos de la sangre y, finalmente, como a veces se encuentra un esquizonte en una célula que se puede calificar con seguridad de eritrocito, resulta suficientemente explicado por qué hasta ahora todos los investigadores de *Karyolysus* — en cuanto se han pronunciado sobre esta cuestión—han admitido que el desarrollo entero de este parásito se realiza en los eritrocitos. Las diferencias en la forma y estructura de la célula y del núcleo, la falta de hemoglobina, etc., se han atribuído a la influencia ejercida por el parásito sobre su célula patrón. Así he señalado en *K. lacertæ* que los esquizontes jóvenes influyen sobre los eritrocitos de modo diferente que los gametocitos, haciendo aparecer una tosca estructura alveolar en los glóbulos de la sangre invadidos por aquéllos (véanse figs. 37-40 del referido trabajo): de hecho, se trata en estas observaciones de células endoteliales libres, en las que es característica una tosca estructura alveolar.

Merecen indicación especial los casos en que encontramos parásitos en células endoteliales o eritroblastos fusiformes (lámina VII, figs. 98, 101 y 102). Estas imágenes nos recuerdan vivamente las que conocemos de los Leucocitozoos de las Aves. Tengo que limitarme aquí simplemente a señalar el hecho: en la parte tercera de este trabajo, al tratar del desarrollo del hemoparasitismo, insistiremos sobre lo que esta coincidencia nos enseña.

Los gametocitos que han penetrado en los glóbulos de la sangre sufren todavía algunas modificaciones antes de quedar allí definitivamente en reposo: crecen un poco y se rodean de una envoltura quística. En *K. bicapsulatus* el quiste tiene el contorno oblongo; si se examina de perfil un glóbulo de la sangre

infectado, se ve que el quiste es notablemente deprimido (lámina VII, fig. 96). La pared se distingue por su gran resistencia, que dificulta mucho la buena fijación de los gametocitos intracelulares. Hasta que se ha formado la cubierta quística no se forman en los polos los dos casquetes ya mencionados anteriormente (pág. 31), haciéndolo el uno después del otro. La figura 91 (lámina VII) representa un gametocito joven que aún no posee más que una de estas formaciones cromáticas; la figura 92 (lámina VII) representa un parásito algo más desarrollado, en cuya cápsula acaba de aparecer el primer indicio de la segunda formación de esta clase. Después todavía, aparece la formación esférica muy refringente, también ya mencionada, que en el ecuador de la cápsula sale de la pared hacia el interior (véanse figuras 93-95, lám. VII). Durante el crecimiento se puede observar en parte de los gametocitos que los cuatro cromosomas se resuelven en un mayor número de granos de cromatina (lámina VII, figs. 94 y 95); esto ocurre en los macrogametos, mientras que en los microgametocitos se puede reconocer, aun en estado maduro, que son en número de cuatro sus unidades de cromatina (lám. VII, figs. 93, 94 y 96), salvo que se vean sólo dos o tres masas a consecuencia de una densa aglomeración. En los microgametocitos la disgregación de los cromosomas no se efectúa hasta que salen de su cápsula. Los microgametocitos se distinguen de los macrogametos no sólo por la estructura nuclear, sino también por la forma más delgada de su cuerpo; pocas veces se les ve estirados (lám. VII, fig. 93); más a menudo se presenta la extremidad posterior doblada, formando una segunda rama (lám. VII, fig. 94).

En los macrogametos aparecen también formas dobladas, pero con menos frecuencia; generalmente son de forma más ancha y recogida (lám. VII, fig. 95). Coinciden ambos sexos en estar el núcleo, en los gametocitos desarrollados, cerca del polo que que representa la extremidad anterior del parásito (véase además lo que se ha expuesto en la pág. 38 sobre los gametocitos).

Al revés de lo que sucede en *bicapsulatus*, la cubierta del quiste de los gametocitos en *biretortus* es delicada y no ofrece obstáculo alguno para la fijación. En las formas desarrolladas está también separada del cuerpo del parásito (lám. VII, figuras 105-108) y se presenta arqueada en forma de hoz, tocando los extremos del alargado núcleo de la célula-patrón. Correspondiendo a esta forma capsular, el gametocito presenta también ordinariamente los dos extremos de su cuerpo más o menos arqueados; muy pocas veces esta curvatura aparece sólo en uno de los extremos del cuerpo y en este caso se trata, en general, de individuos que no han llegado todavía a su desarrollo completo (lám. VII, figs. 105 y 106). De conformidad con esta disposición tan característica de los gametocitos, ha elegido NICOLLE (1904) el nombre de la especie. No menos característica es otra particularidad de la forma del cuerpo en los gametocitos desarrollados, particularidad que consiste en una hinchazón de la parte media del cuerpo, lo cual se debe a que el núcleo se suelta y tiende a la forma esférica. Los individuos en que esta hinchazón es muy pronunciada (lám. VII, fig. 108), deben considerarse como macrogametos, mientras que los que presentan hinchazón menor son evidentemente microgametocitos (lámina VII, fig. 107). Sin embargo, ya hemos indicado (pág. 41) que en esta especie hasta después de efectuada la conjugación, no es posible la distinción segura de los sexos.

## 11. Patología y fagocitosis.

Por lo que se refiere a *K. lacertæ*, ha quedado establecido en mi trabajo anterior que las lagartijas atacadas por este parásito, aun en los casos de infección intensa, no permiten reconocer síntoma alguno de enfermedad. Podemos hacer extensiva esta afirmación a todas las demás especies de *Karyolysus*. Los lacértidos infectados ni están más delgados, ni se muestran me-

nos vivos o menos voraces que los no infectados, ni manifiestan tampoco en cautividad menor resistencia, ni más corta vida. Los *Karyolysus* deben, pues, considerarse, en cuanto a la vida y desarrollo del animal patrón, como parásitos completamente inofensivos.

Algo más hay que decir sobre esta cuestión, considerándola desde el punto de vista patológico-anatómico. En primer término aparece aquí, naturalmente, la imagen que presenta la sangre. Como en la manera de influir los parásitos en los glóbulos de la sangre por ellos atacados existen diferencias características entre las especies, tenemos que reservar para la Parte segunda de este trabajo el discutir la cuestión de hasta qué punto queda dañada o perjudicada en sus funciones la célula atacada.

En las especies de *Karyolysus* por mí estudiadas, el desarrollo está confinado en los endotelios del sistema vascular sanguíneo. Nunca penetran los merozoítos en las células de los órganos mismos, como sucede en algunos Hemococcidios de los Mamíferos o en los parásitos del Lacértido *Mabuia quinquetæniata* —que Wenyon describió (1908) como *Hæmogregarina gracilis,* y que yo he colocado (1912) en el género *Karyolysus*—en los cuales, según Wenyon, la esquizogonía se efectúa en las células del hígado. Por regla general, no se ve en los órganos daño alguno causado por los parásitos de que nos ocupamos. Hablaremos pronto de las excepciones que en ciertas condiciones han sido observadas en el hígado.

Prescindiendo de los que se observan en los elementos celulares de la sangre, todos los fenómenos patológico-anatómicos que encontramos en los Lacértidos están en conexión con la fagocitosis. La fagocitosis es el único modo de reacción que se observa de parte del animal patrón contra la extensión de los parásitos. Parece ejercerse de una manera activa tan sólo por las células estrelladas de Kupffer. Accidentalmente se encuentran también merozoítos en linfocitos o polimorfonucleares (lá-

mina VI, fig. 78); pero no se puede asegurar ni si han llegado allí activa o pasivamente, ni si perecen en dichas células. En gametocitos que debajo del cubre objetos habían salido de su cápsula, he observado muchas veces que eran recogidos por linfocitos y morían rápidamente dentro de éstos, según se desprendía de las alteraciones de forma y estructura. Estos fenómenos son análogos a los que he descrito en *H. stepanowi* (véanse en mi trabajo sobre esta especie las páginas 305 y 306).

Dentro de las células de Kupffer se encuentran siempre, en relación con la intensidad de la infección del animal, numerosos merozoítos (lám. VI, fig. 76). Aquellas células tienen su asiento en el hígado y también en el bazo y médula de los huesos de los Lacértidos, por lo cual están limitadas a estos órganos las imágenes de abundantes fagocitosis. Células aisladas con granos de pigmento, y accidentalmente también con eritrocitos todavía no digeridos, se pueden encontrar por todas partes en la sangre — como en la del corazón y de la cola — y también muchas veces algo más numerosas, en la submucosa del intestino: queda en duda si estas células proceden de los órganos antes mencionados, o si se trata de fagocitos de otra procedencia que coinciden sólo en aspecto con las células de Kupffer, a consecuencia de funcionar idénticamente al digerir los eritrocitos.

Los merozoítos poseen, sin duda, también cierto grado de resistencia a las células de Kupffer. Según todas las apariencias, el número de gérmenes aún no digeridos que encontramos en los fagocitos es demasiado grande para que sea probable que todos hayan sido recogidos muy poco tiempo antes. Puesto que no se efectúa visiblemente una digestión inmediata, no se puede afirmar que, positivamente, todos los parásitos incorporados por las células se mueran y que no puedan, en parte, escaparse de la trampa. Sin embargo, se encuentran también imágenes de digestión indudable, al contrario de lo que hemos observado en

los esporozoítos de *bicapsulatus* (pág. 103). La figura 77 (lámina VI), por ejemplo, nos muestra una célula de Kupffer que contiene, junto a un merozoíto que parece aún normal, muchos restos de núcleos que todavía permiten reconocer claramente la estructura típica de los núcleos de los merozoítos. En conjunto, el modo de conducirse las células de Kupffer con *Karyolysus* presenta gran analogía con el de las células epiteliales del intestino del *Liponyssus* (véase lo dicho sobre este particular en las págs. 34 y 103).

Las figuras de fagocitosis llaman la atención especialmente en los sitios donde poco antes un quiste de esquizogonía ha dejado en libertad sus merozoítos. En estos puntos es donde se forman cúmulos de células estrelladas. Supongo que las células son atraídas allí quimotácticamente al abrirse el quiste; de un modo análogo al que antes (1910, pág. 299) había observado una vez, en vivo, en leucocitos atraídos hacia un quiste de *Hæmogregarina stepanowi*. Estos cúmulos de células de Kupffer son extremadamente característicos de la infección de estos Coccidios, pues en cortes de órganos normales se encuentran siempre dichas células repartidas de un modo bastante regular en los capilares sanguíneos. Que el fenómeno tiene lugar solamente como reacción contra la dispersión de los merozoítos, queda demostrado por las observaciones en infecciones recientes de *Karyolysus* (en los animales de experimentación *L. m. j. núms. 17 y 20)*; en estos casos, las células estrelladas se comportan como en animales no infectados. Lo mismo puede observarse todavía en *L. m. j. núm. 18,* en el cual encontramos numerosas fases de esquizogonía en los capilares del hígado; pero, como he dicho antes, en este caso no se encuentran aún merozoítos libres.

No he observado en Lacértidos adultos daño alguno acasionado en las células de los órganos por tales formaciones de trombos en los capilares, pero sí en animales jóvenes. En ellos se observa en el hígado, que frecuentemente, por destrucción

de algunos lóbulos, va aumentando el espacio ocupado por los cúmulos de células, originándose de este modo un pequeño foco patológico. Uno de tales focos en *L. m. j. núm. 2,* está representado en la figura 109 (lám. VIII), que es perfectamente comprensible mediante su explicación respectiva. Todo el complejo celular muere más tarde — salvo que emigre de nuevo una parte de las células de Kupffer — y se produce en el sitio un espacio lleno tan sólo de residuos, que probablemente desaparece después a consecuencia de una regeneración del tejido.

LABBÉ (1894) ha observado ya exactamente el hecho, sobre el que ha llamado la atención, de que los individuos de *Karyolysus* quedan incorporados y digeridos por las células de Kupffer. LAVERAN y PETTIT (1908), que igualmente han visto después tanto merozoítos como quistes dentro de dichas células, dejan indeciso si se trata de fagocitosis o de un desarrollo en estas células. Consideran los cúmulos de células estrelladas que describí más arriba como células gigantescas multinucleares. Recientemente, PHISALIX (1913) ha encontrado también varias fases de desarrollo de la «hemogregarina» de un Pitón dentro de las células pigmentadas de los capilares hepáticos. Es verdad que no todos los investigadores mencionados designan los fagocitos en cuestión como células de Kupffer, pero las descripciones que hacen no dejan duda alguna de que se trata de tales células.

Puesto que las células de Kupffer se incorporan por una parte parásitos libres y por otra eritrocitos — quizás los que se han vuelto incapaces para su función, como podría muy bien admitirse — se puede suponer fácilmente que prefieren glóbulos de la sangre infectados por *Karyolysus*. Pero no es así: no he podido observar nunca en una célula estrellada ningún glóbulo de la sangre infectado. Dada la digestión rápida que evidentemente sufren los eritrocitos, no se puede afirmar que no ocurra tal fenómeno, sino tan sólo que no hay, por parte de las células de Kupffer, una selección especial de células infectadas. Si de otro modo fuese, la sangre se vería muy pronto limpia de game-

tocitos. Los hechos nos dan un indicio para juzgar de la influencia de los gametocitos sobre sus células patrones; en la Parte segunda insistiremos sobre este punto.

## 12. Infección crónica y recidivas.

Los Coccidios, considerados en general, muestran en su multiplicación dos modos de conducirse. En parte de las especies la multiplicación cesa en un momento determinado, y *todos* los individuos producidos entonces se vuelven formas sexuadas. Ejemplos conocidos de especies que producen una infección aguda son *Eimeria schubergi* y *Cyclospora caryolytica,* así como el Coccidio del Conejo, *Eimeria stiedæ*. En otros Coccidios, por el contrario, sólo una parte de los individuos pasan a ser formas sexuadas, los demás continúan multiplicándose por esquizogonía, y estas especies producen una infección crónica. Schellack y yo hemos descrito detalladamente en *Barrouxia schneideri* un ejemplo en el cual aparece muy desarrollado este curso crónico. También lo encontramos en las especies de *Karyolysus*. He indicado ya en mi trabajo anterior—en la lagartija que infecté con *K. lacertæ*—que la esquizogonía continuaba aún mucho tiempo después de la primera aparición de gametocitos. Para comprobar esto no se necesitan animales infectados experimentalmente: también en lacértidos que se han tenido en cautividad durante meses, protegidos contra la posibilidad de una nueva infección, se encuentran siempre con regularidad fases de esquizogonía, aunque, en general, menos numerosas que en las infecciones recientes.

Idénticas observaciones se han hecho en otros muchos Reptiles. Especialmente instructivos son los resultados conseguidos en reptiles exóticos que han vivido años en parques zoológicos, conservando durante este tiempo su infección de Coccidios en la sangre. Se presenta en este caso la cuestión de saber si de-

bemos atribuir estas infecciones duraderas a una serie no interrumpida de períodos de esquizogonía, o de si debemos admitir la presentación de recidivas originadas por individuos que han permanecido durante mucho tiempo en un estado de reposo. Sabemos que estas recidivas — o sea renovación de una esquizogonía después de un largo reposo — se observan en los parásitos del paludismo, y también en el Coccidio intestinal *Barrouxia schneideri* la aparición periódica de la esporogonía a intervalos bastante grandes, habla en favor de esta opinión.

Es sabido que SCHAUDINN atribuyó las recidivas del paludismo a una transformación de macrogametos en esquizontes, proceso que dicho autor describe detenidamente en *Plasmodium vivax*. Hay varios puntos de vista desde los cuales parece que esta misma opinión es fundada para *Karyolysus*. Los gametocitos, como tales, no tienen más que una vida limitada y, además, los microgametocitos desaparecen de la sangre antes que los macrogametos. Este hecho, que ha sido observado por SCHAUDINN en el parásito de la terciana, lo he observado también en *Hæmogregarina stepanowi* (1910, pág. 327). En *Karyolysus bicapsulatus* he podido seguir más la suerte de los microgametocitos que han pasado ya de la madurez. Repetidas veces he encontrado en la sangre de lagartijas intensamente infectadas imágenes tales como la que representa la figura 97 (lám. VII). Vemos en ella, en un microgametocito encerrado en la cápsula, el núcleo ya dividido, exactamente como si la célula quisiese pasar a la formación de los microgametos. Estas imágenes se apartan de las fases típicas de la formación de microgametos, por cuanto el endosoma no permanece situado entre los núcleos, sino que ha quedado adjudicado a uno de los núcleos hijos; además los núcleos son menos compactos, permitiendo distinguir fácilmente los cuatro cromosomas. Parece que este desarrollo nunca llega, en la sangre, a su fin, pues jamás he visto que de estos microgametocitos resulten ni microgametos, ni gérmenes de forma de merozoítos. Por el contrario, muchas figuras mani-

fiestan que estas fases mueren después de la división del núcleo. La posibilidad de un desarrollo de los microgametocitos sin previa conjugación con un macrogameto, ha sido observada ya por Pérez en *Adelea mesnili:* en esta especie dos microgametocitos pueden conjugarse entre sí y pasar después a la formación de microgametos.

Del mismo modo que el microgametocito, que no llega a unirse con un macrogameto, pasa finalmente, aun sin este estímulo, a la división del núcleo, también quizás el macrogameto, cuando falta el estímulo del acto de la fecundación, reciba ocasionalmente por otras influencias el impulso para un desarrollo ulterior. El microgametocito está evidentemente diferenciado de un modo demasiado determinado, para estar todavía en condiciones de producir gérmenes viables; el macrogameto, en cambio, está desde luego dispuesto a dar de sí numerosos gérmenes. Ante todo, no debemos perder de vista que *no* se trata aquí de un caso de partenogénesis. Como no se efectúa — según ahora sabemos ya — una reducción de cromosomas cuando la producción de los macrogametos, éstos no representan en el fondo nada más que merozoítos cuyo desarrollo ulterior sufrió en seguida una detención, necesitando una excitación especial, de la cual el acto de la fecundación es el agente ordinario, aunque no el único posible.

Queda por saber de qué clase han de ser los estímulos aquí supuestos y si, para un desarrollo posterior, hay que tener en cuenta especialmente los macrogametos que acaso en vez de penetrar en glóbulos de la sangre libres, se han introducido en células endoteliales (1).

El problema completo — que ya es de gran importancia para todos los Esporozoos afines, y especialmente para los patógenos — podría muy bien ser susceptible de una resolución experi-

(1) Las recidivas del paludismo pueden, como es sabido, resolverse por duchas frías en la región del bazo o por otros estímulos.

mental en los Lacértidos ya que, mediante el conocimiento detallado de las condiciones de infección y desarrollo del parásito, se ha dado el fundamento para ello.

## 13. Cromosomas y modo de división del núcleo en los Coccidios.

Hemos visto en *Karyolysus bicapsulatus* una especie de Coccidio que en todas las fases, prescindiendo de las de división nuclear, permite reconocer con claridad casi constantemente cuatro cromosomas en su núcleo. Los esporozoítos y merozoítos muestran siempre los cromosomas; los esquizontes que de ellos proceden los muestran hasta el comienzo de las divisiones nucleares; en los gametocitos los encontramos, por regla general, en los microgametocitos hasta el momento en que éstos van buscando a los macrogametos en el intestino del ácaro; en los macrogametos, los cromosomas se disgregan un poco antes. En ciertas circunstancias están claramente visibles aun en la fase de formación de los esporoquinetos. En las divisiones de nucleares no puede fijarse con exactitud el número de cromosomas más que en la primera división de la esporogonía, es decir, la división reductora; pero aun en las otras divisiones, en las que los cromosomas, debido a su larga forma de filamentos, son difíciles de distinguir unos de otros, podemos sin embargo apreciar «poco más o menos» que deben ser cuatro.

Dobell y Jameson (1915) consiguieron por vez primera comprobar la presencia siempre constante de igual número de cromosomas en *Aggregata eberthi*. Hasta donde podemos deducirlo de las figuras esquemáticas de su comunicación previa, deben mostrarse allí los cromosomas con claridad extraordinaria. Su número puede fijarse en esta especie en todas las divisiones. Los mencionados autores creen poder generalizar su descubrimiento y suponen que para todos los Coccidios se podrá comprobar un modo análogo de conducirse los cromosomas. Las in-

dicaciones de «amitosis» la refieren a condiciones anormales o a degeneración en los organismos investigados o a una técnica defectuosa.

Las Agregatas manifiestan en sus detalles citológicos tantas particularidades en contraposición a otros Coccidios, que a mi parecer son precisamente los menos adecuados para que se puedan considerar los hechos establecidos en ellos como típicos de la totalidad de los Coccidios, ya que ha sido necesario averiguar la clase del proceso de fecundación para poder decidir que aquellos Protozoos no pertenecen a las Gregarinas, sino a los Coccidios. Ningún especialista toma una *Eimeria* o una *Adelea* por una Gregarina, aunque no observe el proceso de fecundación.

En la investigación de las diferentes especies de *Karyolysus* he llegado también a la convicción de que en todos los Coccidios se presenta un número constante de cromosomas, pero, por otra parte, dicha investigación me ha enseñado precisamente que en los Coccidios sólo por excepción es posible, no ya fijar el número de cromosomas, sino hasta comprobar la presencia de los cromosomas como unidades distintas. Esta dificultad estriba en la débil conexión que poseen generalmente las partículas de cromatina que pertenecen a un cromosoma. Así en todas las especies de *Karyolysus* encontramos en el transcurso de las divisiones nucleares largos hilos de granos de cromatina situados en serie poco compacta, hilos acerca de cuyo número nada seguro puede comprobarse; en el núcleo en reposo de algunas de las especies, como *bicapsulatus*, se puede ver, por el contrario, la cromatina dispuesta en cuatro masas esféricas claramente limitadas; en otras especies, como *biretortus* y *lacazei*, el núcleo en reposo contiene numerosos granos de cromatina. Esta disparidad no puede descansar, naturalmente, en especies tan parientes, sobre profundas diferencias citológicas; resulta sencillamente de ello que en las especies del primer grupo los granos de cromatina pertenecientes a un cromosoma se han juntado de una manera

compacta en el núcleo en descanso, mientras que no sucede lo propio en las del segundo grupo.

Encontramos en otros Coccidios imágenes que, de una manera más o menos significativa, hablan en favor de la presencia de cromosomas. Así en *Hæmogregarina stepanowi* he observado (1912, pág. 311), que en todas las fases de esta especie de Coccidio en las que se inicia una multiplicación nuclear, la cromatina se ordena como un «ovillo». Se produce así una figura nuclear igual a la que aparece antes de una verdadera mitosis; pero después estos hilos se descomponen en grandes masas esféricas de cromatina que recuerdan los cromosomas esféricos del núcleo en reposo de *bicapsulatus*. A causa de su gran número no deben considerarse estas masas esféricas en *H. stepanowi)* como cromosomas; creo más bien que varios de ellos corresponden a un cromosoma. Cuando las dos mitades del núcleo se separan no observamos más que una disposición en filas de los granos de cromatina. En estas filas hemos de reconocer los cromosomas, exactamente como en las formas análogas en *Karyolysus*.

Esta disposición en filas de los granos de cromatina en la división del núcleo ha sido descrita y figurada en numerosos Coccidios. En *Klossia vitrina* designa Moroff (1911) esta disposición de cromatina precisamente como cromosomas; dice no poder fijar su número, pero cree que deben ser ocho; también le parece que en la división se hienden longitudinalmente. No creo que otros investigadores hayan suministrado datos sobre el número de cromosomas en la esquizogonía. En núcleos de Coccidios muy pobres en cromatina, como por ejemplo en las primeras divisiones esquizogónicas de *Barrouxia schneideri*, no aparecen ni siquiera estas filas de granos durante la división, y escapan por consiguiente los cromosomas por completo a la observación. Pero las imágenes de las divisiones últimas en el esquizonte de la misma especie nos enseñan que, a pesar de escapar a la observación, estos cromosomas deben estar también

presentes en las primeras divisiones; pues en el esquizonte multinuclear vuelven a observarse en los núcleos granos de substancia cromática, y entonces se presentan éstos en la división con la misma disposición en filas que en los demás Coccidios.

Una fase en que los cromosomas parecen poseer en todos Coccidios estructura compacta, bastante netamente limitada, es el principio de la división reductora. En esta fase precisamente han llamado los cromosomas la atención de los investigadores en una serie de especies. Donde no se puede comprobar su existencia, se explica esto por qué inmediatamente después de la fecundación se forma una muy sólida envoltura oocística que dificulta la fijación y teñido de todas las fases posteriores. Las especies en que han sido descritos cromosomas patentes durante la primera división de la esporogonía (véase pág. 62), se distinguen todas ellas por una delicada envoltura oocística.

Una discusión sobre todo cuanto ha sido escrito sobre las figuras de división nuclear en los Coccidios, nos llevaría demasiado lejos; estimo que bastan estas breves observaciones para mostrar que es verosímil que a todos los Coccidios les corresponde un número determinado y constante de unidades de cromatina, sin que por ello tengamos necesidad de suponer, con Dobell y Jameson, imágenes patológicas o técnica defectuosa en todos los casos en que no se han descrito cromosomas, esto es, en casi todos los expuestos en la literatura. Sin duda hay que convenir con los citados investigadores en que existen en las descripciones de multiplicaciones de nucleares en los Coccidios numerosos errores, que descansan no sólo en las causas mencionadas, sino también en otras, como confusión de cromatina con volutina (véase pág. 65), equivocada combinación de las imágenes encontradas, etc.

Estas exposiciones erróneas en modo alguno existen en todos los casos en que el investigador ha empleado la palabra «amitosis» para designar el proceso de división, como evidentemente suponen Dobell y Jameson. En estas denominaciones se trata

muchas veces sólo de un concepto diferente de la glosología; el mismo proceso de división puede ser designado por un investigador como mitótico y por otro como amitótico. Insistamos por ello brevemente sobre el mecanismo de la división nuclear en los Coccidios.

Las presentes investigaciones han ofrecido nuevos ejemplos de que el endosoma del núcleo, cuando se conserva durante la división, no representa un órgano de división nuclear. Lo mismo que en *K. lacertæ,* en otras especies de *Karyolysus* la división del endosoma se efectúa después de la separación de los cromosomas (véase pág. 118). Además, tampoco he podido comprobar por coloración en estas especies la presencia de centriolos ni en el endosoma, ni durante las divisiones de nucleares en los polos. No es muy probable que estas formaciones, encontradas por la escuela de HARTMANN en los más diminutos Protozoos, me hubieran pasado inadvertidas en mis objetos — muy claros en ciertas fases, especialmente en las formas de división reductora — si en realidad existiesen en ellos. Nada tengo, por tanto, que añadir sobre este punto a mis anteriores discusiones. (Véase pág. 355, 1913; y respecto de toda la cuestión de los centriolos, véase especialmente GLÄSER, 1912).

En las Agregatas, la división del núcleo se verifica en forma de mitosis típica (LÉGER y DUBORG, 1908; MOROFF, 1908; DOBELL y JAMESON, 1915): se forma un huso con fibras acromáticas, en el cual los cromosomas se disponen antes de la división en una placa ecuatorial. Salvo en este caso, muy pocas veces se han podido observar hasta ahora las fibras en huso; KUNZE (1907) y MOROFF (1911) describen su presencia en *Orcheobius herpobdellæ* y *Klossia vitrina* en la primera división de la esporogonía (división reductora). También en estos casos hemos de designar la división como mitótica.

En las formas de división que observamos generalmente en los Coccidios, incluso en *Karyolysus,* no se puede reconocer nada de aparato de división. Lo que se observa es sencillamente

una separación de las formaciones de cromatina que más o menos claramente pueden reconocerse como cromosomas. Sin embargo, hay excepciones. Al principio de la división reductora encontramos en *Karyolysus* que el núcleo se vuelve fusiforme, sin que esto pueda ser ocasionado por la disposición de la cromatina; igual observación hicimos antes al hablar de la formación del huso de fecundación (pág. 59). En este fenómeno evidentemente debe obrar un principio cinético, aparte de los cromosomas. Es indudable que dichas figuras representan una transición a las de una mitosis típica; pero aun ellas — y menos las anteriormente mencionadas — no se las puede denominar mitóticas, pues lo característico de una mitosis es precisamente la presencia de un huso de fibras. Por otra parte, yo no quisiera conservar la dominación de amitosis que he empleado en trabajos anteriores, lo mismo que otros muchos investigadores, para el modo de división de los Coccidios. Cuanto mejor conozcamos que el modo de la división nuclear en estos casos difiere, no fundamentalmente, sino sólo en grado, del mitótico, tanto menos oportuno parecerá presentarlo, mediante el prefijo *a*, en oposición a la mitosis. También debemos separar idealmente una forma de división que conduce a una repartición hereditaria igual de los elementos generativos, de las amitosis típicas, en las cuales — como en la del macronúcleo de los Infusorios, por ejemplo — es evidente que no ocurre necesariamente esta igualdad.

Para designar la división nuclear de los Coccidios — exceptuados los casos de mitosis antes mencionados — podemos emplear la denominación de *promitosis* introducida por NÄGLER (1909), si queremos darle un sentido más amplio y si en la definición del mismo autor: «Kernteilung die weder ausgesprochene Mitose noch Amitose ist und sich charakterisiert durch die Teilung eines Nucleocentrosoms, des Caryosoms», hacemos caso omiso de la segunda parte de la frase, con lo cual el concepto resultará independiente de consideraciones

hipotéticas sobre la constitución del núcleo. Las hipótesis están sujetas a variaciones, y para un término técnico es de desear que sobreviva a éstas.

* * *

La traducción al castellano del presente trabajo ha sido hecha por D. Eduardo Surmely y revisada, lo mismo que las pruebas de imprenta, por mi amigo y colega D. Antonio de Zulueta, complaciéndome en poder expresar aquí mi mayor agradecimiento por su muy estimable labor.

---

## BIBLIOGRAFÍA

CHAGAS (C.).

1910. — Cytologische Studien über *Adelea hartmanni*. (Mem. Inst. Oswaldo Cruz, vol. 2, pág. 168).

DOBELL (C.).

1914. — Le cycle évolutif de *l'Aggregata*. (Bull. Inst. Océanogr., n.º 283).

DOBELL (C.) Y A. P. JAMESON.

1915. — The chromosome cycle in Coccidia and Gregarines. (Proc. Roy. Soc., Ser. B., vol. 89, pág. 83).

DOFLEIN (F.).

1916.—Lehrbuch der Protozoenkunde. (G. Fischer, Jena).

FRANÇA (C.).

1909. — Sur les Hématozoaires des Sauriens. I. Hémogrégarines de *Lacerta ocellata*. (Arch. Inst. Bact. Camara Pestana, vol. 2, pág. 339).

1910, a. — Id. II. Parasites endocellulaires du *Psammodromus algirus* de Portugal. (Arch. Inst. Bact. Camara Pestana, vol. 3, pág. 1).

1910, b. — Id. III. Hémogrégarines de *Lacerta muralis*. (Arch. Inst. Bact. Camara Pestana, vol 3, pág. 21).

GLÄSER (H.).

1912. — Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben. (Arch. Protistenk., vol. 25, pág. 27).

HAECKER (V.).

1912.—Zeugungslehre. (Handb. d. Morphol. d. wirbellosen Tiere. vol. 2, pág. 51).

HERTWIG (R.).

1902. — Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. (Sitzungsber. math. phys. Clas. kgl. bayer. Akad. Wissensch., vol. 32, pág. 57).

KUNZE (W.).

1907.—Über *Orcheobius herpobdellae*. (Arch. Protistenk., vol. 9, pág. 382).

KUPFFER (C. v.).

1889. — Über die sogenannten Sternzellen der Säugetierleber. (Arch. mikr. Anat., vol. 54, pág. 254).

KYES (P.).

1915. — The physiological destruction of erythrocytes in Birds. (Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol., vol. 31, pág. 543).

LABBÉ (A.).

1894. — Recherches zoologiques et biologiques sur les parasites endoglobulaires du sang des Vertébrés. (Arch. Zool. exp., Ser. 3, vol. 2, pág. 55).

LAVERAN (A.) Y A. PETTIT.

1908. — Sur les formes de multiplication endogène de *Haemogregarina lacertae*. (C. R. Acad. Sci., vol. 147, pág. 1378).

LÉGER (L.).

1898. — Sur la morphologie et le développement des microgamètes des Coccidies. (Arch. Zool. exp., Ser. 3, vol. 6, N. et R.).

1904. — Sporozoaires parasites de l'*Embia Solieri*. (Arch. Protistenk., vol. 3, pág. 361).

LÉGER (L.) Y O. DUBOSCQ.

1908.—L'évolution schizogonique de l'*Aggregata eberthi*. (Arch. Protistenk., vol. 12, pág. 44).

1910.—*Selenococcidium intermedium*. (Arch. Zool. exp., Ser. 5, vol. 5, pág. 187).

1917. — Sporozoaires de *Glossobalanus minutus*. (Ann. Inst. Pasteur, vol. 31, pág. 60).

MARCEAU (F.).

1901. — Note sur le *Karyolysus lacertarum*. (Arch. Parasit., vol. 4, pág. 135).

MILLER (W. W.).

1908. — *Hepatozoon perniciosum*, a haemogregarine pathogenic for white rats. (Treasury Dep. U. S. Publ. Health and Marine-Hosp. Service Hyg. Lab., Bull. 46. Washington).

MOROFF (TH.).

1907. — Untersuchungen über Coccidien. I. *Adelea zonula*. (Arch. Protistenk., vol. 8, pág. 17).

1908. — Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes. (Arch. Protistenk., vol. 11, pág. 1).

1911. — Untersuchungen über Coccidien. II. *Klossia vitrina*. (Arch. Protistenk., vol. 23, pág. 51).

NÄGLER (K.).

1909.—Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. (Arch. Protistenk., vol 15, pág. 1).

NICOLLE (CH.).
1904.—Sur une Hémogrégarine de *Lacerta ocellata*. (C. R. Soc. Biol., Paris, vol. 50).

NÖLLER (W.).
1912. — Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe. (Arch. Protistenk., vol. 25, pág. 386).

OPPEL (A.).
1900. — Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. Dritter Teil. (G. Fischer, Jena).

OUDEMANS (A. C.).
1901. — Notes on Acari. Third Series. (Tijdschr. d. Nederlandsche Dierk. Vereen, ser. 2, vol. 7).

PÉREZ (CH.).
1903.—Le cycle évolutif de l'*Adelea Mesnili*. (Arch.Protistenk., vol. 2, pág. 1).

PHISALIX.
1913.—Sur une Hémogrégarine du Python molure et ses formes de multiplication endogène. (C. R. Soc. Biol., Paris, vol. 74, pág. 1052).

REICH (F.).
1913. — Das Kaninchencoccid *Eimeria stiedae* nebst einem Beitrage zur Kenntnis von *Eimeria falciformis*. (Arch. Protistenk., vol. 28, pág. 1).

REICHENOW (E.).
1910. — *Haemogregarina stepanowi*. Die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarine. (Arch. Protistenk., vol. 20, pág. 251).
1912. — Die Hämogregarinen. (Handb. d. Pathog. Protozoen v. S. v. Prowazek, vol. 2, pág. 602).
1912. — Der Zeugungskreis von *Karyolysus lacertae*. (Sitzungsber. Ges. Naturf. Freunde, Berlin, pág. 468).
1913.—*Karyolysus lacertae*, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse *Lacerta muralis* und der Milbe *Liponyssus saurarum*. (Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamte, vol. 45, pág. 317).
1918, a.— Digestion intracelular en un Acaro. (Bol. R. Soc. Esp. Hist. Natural, vol. 18, pág. 258).
1918, b. — *Eutrichomastix lacertae* en la sangre y en Acaros hematófagos. (Bol. Inst. Nac. Hig. Alfonso XIII, Año 14, pág. 183).

1919. — Der Entwicklungsgang der Hämococcidien *Karyolysus* und *Schellackia* nov. gen. (Sitzungsber. Ges. Naturf. Freunde, Berlin, pág. 440).

ROBERTSON (M.).

1910. — Studies on Ceylon Haematozoa. II. Notes on the life-cycle of *Haemogregarina nicoriae*. (Quart. Journ. micr. Sci., vol. 55, pág. 741).

SCHAUDINN (F.).

1900. — Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien. (Zool. Jahrb., Abt. Morph., vol 13, 1900, pág. 197).

1902, a. — Studien über krankheitserregende Protozoen. I. *Cyclospora caryolytia*. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte., vol. 18, pág. 378).

1902, b.—Id. II. *Plasmodium vivax*. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte, vol. 19, pág. 169).

1905. — Neue Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. (Verh. d. Deutsch. Zool. Ges., Breslau, pág. 16).

1911. — Arbeiten. (Hamburg u. Leipzig, 1911. L. Voss).

SCHELLACK (C.) Y E. REICHENOW.

1912. — Coccidien Untersuchungen. I. *Barrouxia schneideri*. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte., vol. 44, pág. 30).

SCHELLACK (C.).

1913. — Id. II. Die Entwicklung von *Adelea dimidiata*. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte, vol. 45, pág. 269).

SCHELLACK (C.) Y E. REICHENOW.

1915. — Id. III. *Adelea ovata*. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte., vol. 48, pág. 425).

SCHUBERG (A.) Y W. KUNZE.

1906. — Uber eine Coccidienart aus dem Hoden von *Nephelis vulgaris*. (Verh. d. Deutsch. Zool. Ges.).

SIEDLECKI (M.).

1899.—Etude cytologique de *Adelea ovata*. (Ann. Inst. Pasteur, vol. 13, pág. 169).

WENYON (C. M.).

1908.—Report of travelling pathologist and protozoologist. (Welcome Res. Lab. Rep. 3. Khartoum).

WOODCOCK (H. M.).

1912. — Notes on Sporozoa. (Quart. Journ. Micr. Sci., vol. 58, pág. 171).

---

# EXPLICACIÓN DE LAS LÁMINAS

Las figuras representan el aumento — a la altura de platina del microscopio — del objetivo de Zeiss inmers. apocr. 2 mm., generalmente con el ocular comp. 12.

En los casos en que se han empleado otros oculares, se indican éstos en la explicación de la figura correspondiente.

El aumento es: con ocular 4 = 625, con oc. 8 = 1300, con oc. 12 = 1800, con oc. 18 = 2500.

Es decir: 1 micra con ocular 4 = 0,6 mm., con oc. 8 = 1,3 mm., con oc. 12 = 1,8 mm., con oc. 18 = 2,5 mm.

La materia colorante en las figuras 98 y 99 es la disolución de Giemsa; en todas las demás la hematoxilina de Delafield.

Abreviaturas: ♂, macho; ♀, hembra; b, endosoma; N, núcleo; n, nucleolo; R, residuo. En cuanto a las demás abreviaturas, véanse las explicaciones de las figuras respectivas.

## Lámina I

*Karyolysus bicapsulatus.*

Fig. 1. — Dos células epiteliales jóvenes y una claviforme del intestino de *Liponyssus*, esta última conteniendo un macrogameto y un microgametocito. (Oc. 8).

Fig. 2. — Célula epitelial del intestino del Acaro verificando la digestión, con eritrocitos de *Lacerta muralis* y gametocitos. (Oc. 8).

Fig. 3. — Célula epitelial del intestino después de terminada la digestión. Los gametocitos ingeridos están reunidos casi todos en una gran vacuola. (Oc. 8).

Fig. 4. — Célula epitelial del intestino después de terminada la digestión, con pocos gametocitos repartidos en el plasma. (Oc. 8).

Fig. 5. — Célula epitelial del intestino con una acumulación de gametocitos, algunos de los cuales son degenerados. (Oc. 8)

Fig. 6. — Macrogameto que ha penetrado sin conjugante macho en una célula epitelial. (Oc. 8).

Fig. 7. — Parte de una célula epitelial con una fase de conjugación.

Fig. 8. — Huevo de Acaro poco antes de la puesta con esporoquinetos en el vitelo. (Aum. 300).

## Lámina II

Figs. 9-15. — *K. bicapsulatus.*

Fig. 9. — Macrogameto en el intestino del Acaro poco antes de su salida del eritrocito del Lacértido.

Fig. 10. — Conjugación de un macrogameto (♀) con cuatro microgametocitos.

Fig. 11. — Fase de fecundación. Un microgameto ha penetrado hasta su mitad en el macrogameto.
Fig. 12. — Fase de fecundación. Un microgameto ha penetrado completamente en el núcleo del macrogameto.
Fig. 13. — Microgameto. (Oc. 18).
Fig. 14. — Cópula. Los endosomas masculino y femenino están a punto de fusionarse; las cromatinas masculina y femenina están claramente separadas.
Fig. 15. — Cópula. Los endosomas están fusionados; la cromatina se ha descompuesto en pequeñísimos granos.

Figs. 16-23.—*K. biretortus.*

Fig. 16. — Macrogameto libre en el contenido del intestino del Acaro.
Fig. 17. — Microgametocito en el contenido del intestino del Acaro.
Fig. 18. — Fase libre de conjugación.
Fig. 19. — Fase intracelular de conjugación; el macrogameto crecido.
Fig. 20. — Después de la fecundación; núcleos masculino y femenino perfectamente distinguibles.
Fig. 21. — Cópula. Endosomas masculino y femenino fusionados; cromatinas masculina y femenina no distinguibles ya.
Fig. 22. — Cópula. La cromatina se ha ditribuido en numerosos gránulos.
Fig. 22 a. — El microgameto de la figura 22 dibujado con mayor aumento. (Oc. 18).
Fig. 23. — Huso de fecundación.

Figs. 24-31.—*K. lacazei.*

Fig. 24. — Macrogameto intraglobular en la sangre de *Lacerta muralis.*
Fig. 25. — Microgametocito intraglobular en la sangre de la Lagartija.
Figs. 26 y 27. — Macrogametos libres en el contenido intestinal del Acaro.
Fig. 28. — Microgametocito libre en el contenido intestinal del Acaro.
Fig. 29. — Fagocito en la cavidad abdominal del Acaro con gametocitos ingeridos.
Fig. 30. — Fagocito en la cavidad abdominal del Acaro con restos casi digeridos de un gametocito.
Fig. 31. — Fase de conjugación en una célula hipodérmica del Acaro.

Lámina III

Fig. 32. — Segunda división de la esporogonia de *K. lacazei.*
Fig. 33. — Oocisto trinuclear de *K. zuluetai.*
Fig. 34. — Oocisto multinuclear de *K. bicapsulatus.*
Fig. 35. — Gemación de los esporoquinetos de *K. bicapsulatus.*

Figs. 36-41.—*K. biretortus.*

Figs. 36 y 37. — División reductora.
Fig. 38. — Final de la multiplicación de núcleo en el oocisto. Acortamiento de los cromosomas filiformes y disposición estrellada.

Fig. 39. — Comienzo de la gemación de los esporoquinetos; disociación de los cromosomas.
Fig. 40. — Desprendimiento de ocho esporoquinetos (cuatro visibles).
Fig. 41. — Producción de sólo dos esporoquinetos.

## Lámina IV

Figs. 42 y 43. — Esporoquinetos jóvenes de *K. bicapsulatus*.
Figs. 44 y 45. — Esporoquinetos maduros de *K. bicapsulatus*.
Fig. 46. — Esporoquineto maduro de *K. zuluetai*.
Figs. 47-51. — Esporoquinetos de *K. bicapsulatus* de ácaros en ayuno.
Figs. 52 y 53. — Esporoquinetos jóvenes de *K. biretortus*.
Fig. 54. — Esporoquineto maduro de *K. biretortus*.
Figs. 55 y 56. — Transformación de núcleos en esporoquinetos de *K. biretortus* al convertirse en esporocistos en el huevo del Acaro. (Oc. 18).
Fig. 57. — Esporoquineto acortado de *K. biretortus* de un huevo de Acaro.
Fig. 58. — Salida de nucleolos del endosoma en el núcleo de un esporoquineto acortado de *K. biretortus*. (Oc. 18).

## Lámina V

Figs. 59 y 60. — *K. zuluetai*. Figs. 61-69. — *K. bicapsulatus*.

Fig. 59. — Esporocisto uninuclear producido por tomar forma esférica el esporoquineto.
Fig. 60. — Esporocisto. Salida de nucleolos del endosoma.
Figs. 61 y 62. — Primera división de núcleo en el esporocisto.
Fig. 63. — Principio de la segunda división en el esporocisto; cc, hendidura de un cromosoma.
Fig. 64. — Esporocisto cuadrinuclear. Dos núcleos, NN, están situados del lado inferior y aparecen, por consiguiente, dibujados de un modo más pálido.
Fig. 65. — Esporocisto con esporozoítos maduros.
Fig. 66. — Esporozoíto del epitelio del intestino de *Lacerta muralis*.
Fig. 67. — Trozo de un corte a través de un nodulito linfático del intestino de *Lacerta muralis*. Dos linfocitos contienen esporozoítos.
Fig. 68. — Esporozoíto que ha penetrado en una célula endotelial del hígado y donde se ha transformado en un esquizonte joven, seis días después de la infección de la lagartija.
Fig. 69. — Esquizonte crecido, que ha salido de un esporozoíto.

Figs. 70-74. — *K. biretortus*.

Fig. 70. — Esporocisto oval formado por un esporoquineto en un huevo de Acaro.
Figs. 71-73. — Primera división de núcleo en el esporoquiste.
Fig. 74. — Esporocisto con esporozoítos maduros.

LÁMINA VI

Fig. 75. — Trozo de un corte a través de un capilar del hígado de *Lacerta muralis*. En el capilar se ve una célula estrellada de Kupffer que contiene un esporozoíto de *K. bicapsulatus* y el residuo de un eritrocito digerido. Al lado encuéntrase un eritrocito libre. Arriba y abajo se ven células de dos lóbulos del hígado.
Fig. 76. — Célula estrellada de Kupffer del hígado de *Lacerta viridis* que contiene cuatro merozoítos aún bien conservados (gametocitos jóvenes) de *K. biretortus* y un eritrocito (E).
Fig. 77. — Célula estrellada de Kupffer del hígado de *Lacerta muralis* con un merozoíto todavía bien conservado y numerosos restos de núcleos de merozoítos digeridos de *K. bicapsulatus*.
Fig. 78. — Leucocito polimorfonuclear de *Lacerta viridis* con un gametocito joven de *K. biretortus*.

Figs. 79-81. — *K. bicapsulatus*.

Fig. 79. — Primera división nuclear en un esquizonte.
Fig. 80. — Quiste con ocho merozoítos maduros.
Fig. 81. — Corte a través de un quiste con 188 merozoítos.

Figs. 82-89. — *K. biretortus*.

Fig. 82. — Merozoíto asexual en un eritrocito.
Figs. 83 y 84. — Esquizontes uninucleares en células endoteliales del hígado de *L. viridis*.
Fig. 85. — Esquizogonía.
Fig. 86. — Merozoitos asexuales en gemación.
Fig. 87. — Quiste con merozoítos asexuales.
Fig. 88. — Gametocitos jóvenes en gemación.
Fig. 89. — Quiste con gametocitos jóvenes.

LÁMINA VII

Figs. 90-97. — *K. bicapsulatus*.

Fig. 90. — Gametocito joven en un eritroblasto.
Figs. 91 y 92. — Gametocitos crecidos. Formación de ambos casquetes cromáticos.
Figs. 93 y 94. — Microgametocitos formados.
Fig. 95. — Macrogameto formado.
Fig. 96. — Glóbulo de la sangre con microgametocito, visto de perfil.
Fig. 97. — División de núcleo realizada en un microgametocito que ha pasado de la madurez, en la sangre de lagartija.

Figs. 98-108. — *K. biretortus*.

Fig. 98. — Merozoito asexual en una célula fusiforme. (¿Eritroblasto?).
Fig. 99. — Producción de sólo dos merozoítos de un esquizonte.
Fig. 100. — Doble infección por un merozoíto asexual y un gametocito joven. Célula patrón probablemente célula endotelial.

Fig. 101. — Célula libre de la sangre de Lagartija, probablemente una célula endotelial desprendida, con un gametocito joven.

Fig. 102. — Gametocito joven en eritroblasto fusiforme.

Figs. 103 y 104. — Gametocitos jóvenes en eritroblastos.

Figs. 105-108. — Gametocitos formados.

## Lámina VIII

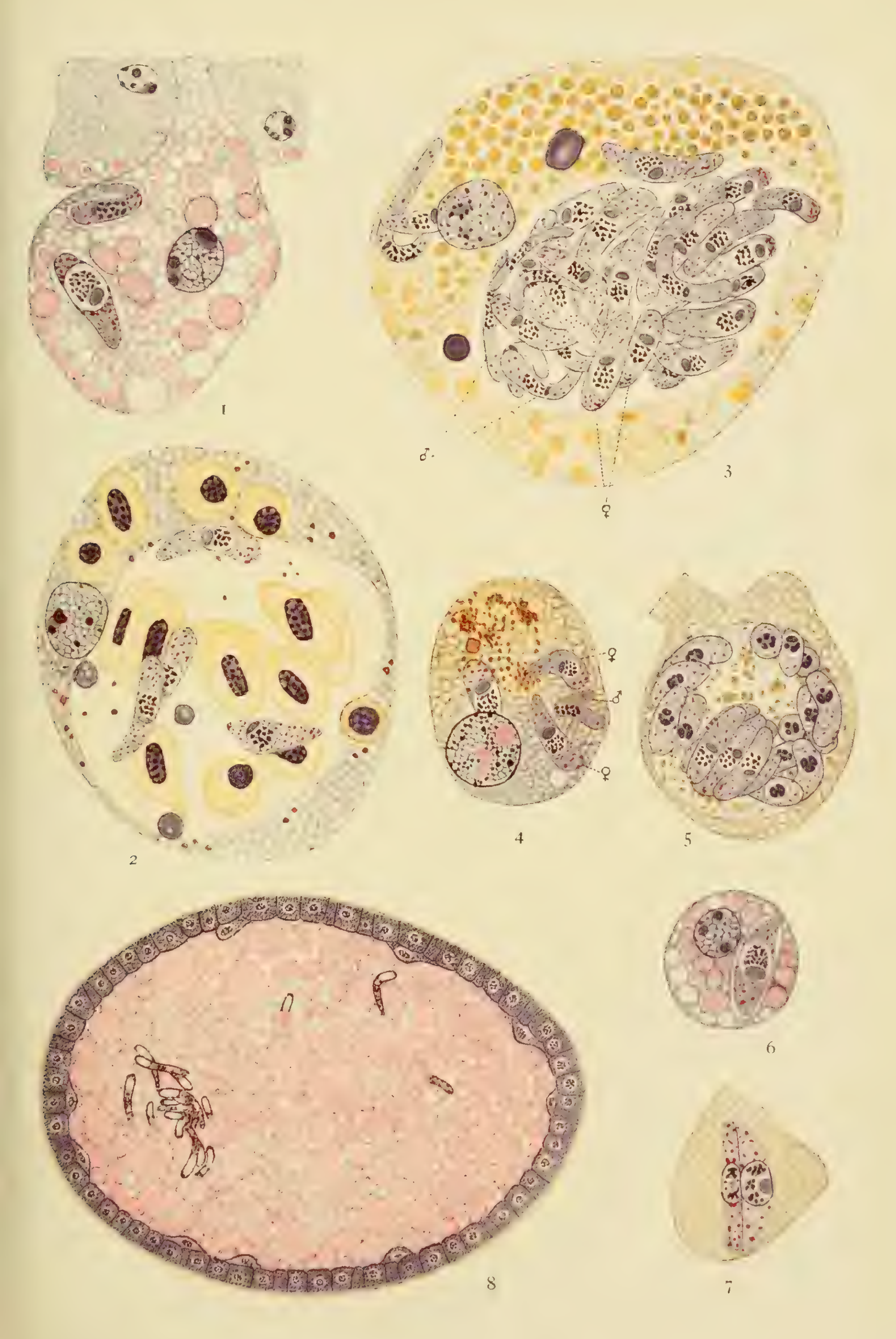
Fig. 109. — Corte a través de un foco patológico en el hígado de una *Lacerta muralis* joven: *a,* capilares sanguíneos; *b,* capilares biliares; *c,* células hepáticas normales; *d,* células hepáticas destruídas; *e,* células de Kupffer con merozoítos de *K. bicapsulatus*. (Oc. 8).

Figs. 110-114. — Formación de esporoquinetos de *K. bicapsulatus* en Acaro en ayuno. (Oc. 8).

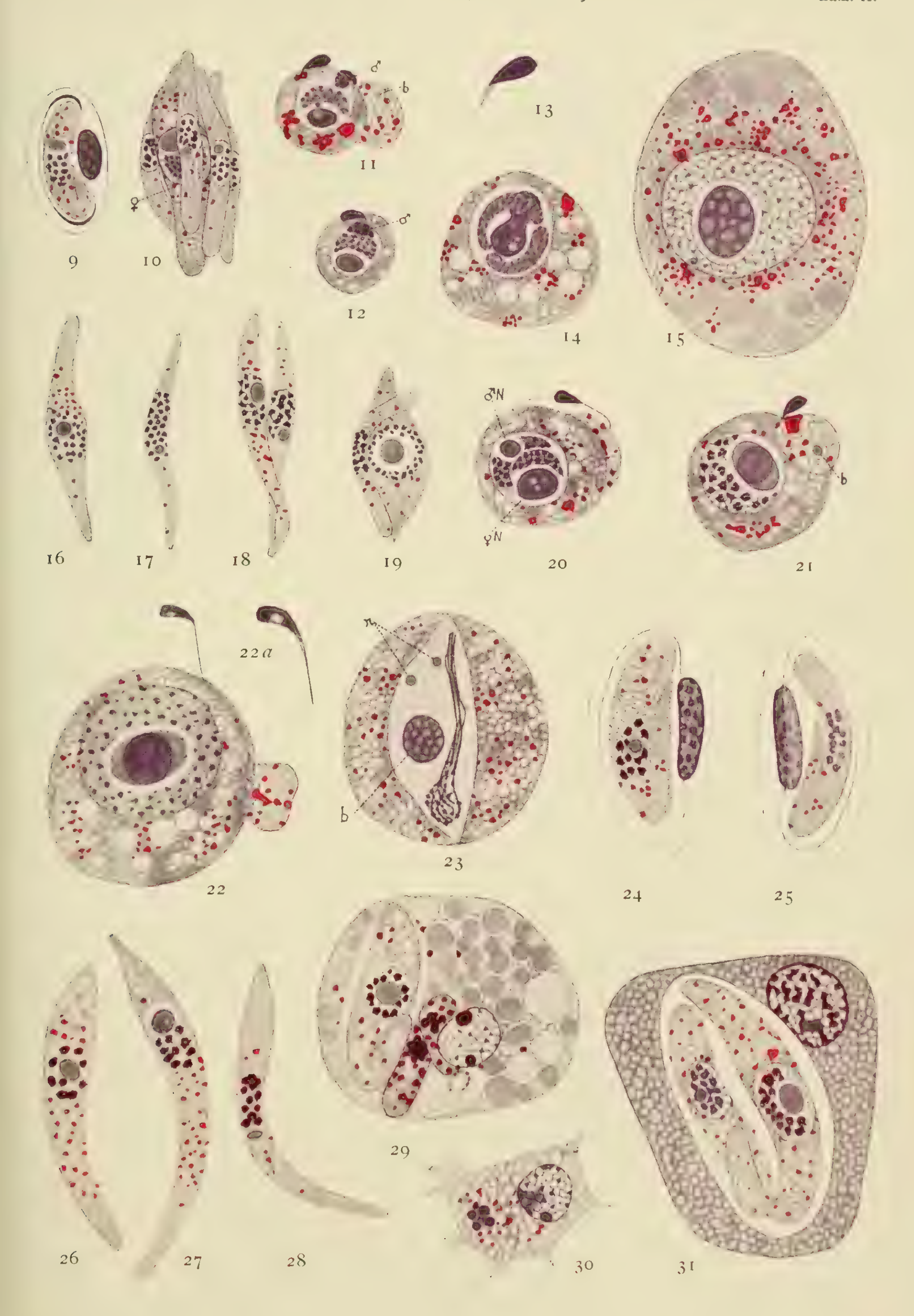
Fig. 115. — Oocisto con esporoquinetos maduros de *K. bicapsulatus* en circunstancias ordinarias. (Oc. 8).

Fig. 116. — Fagocito de la cavidad abdominal del Acaro con esporoquinetos medio digeridos de *K. biretortus*. (Oc. 8).

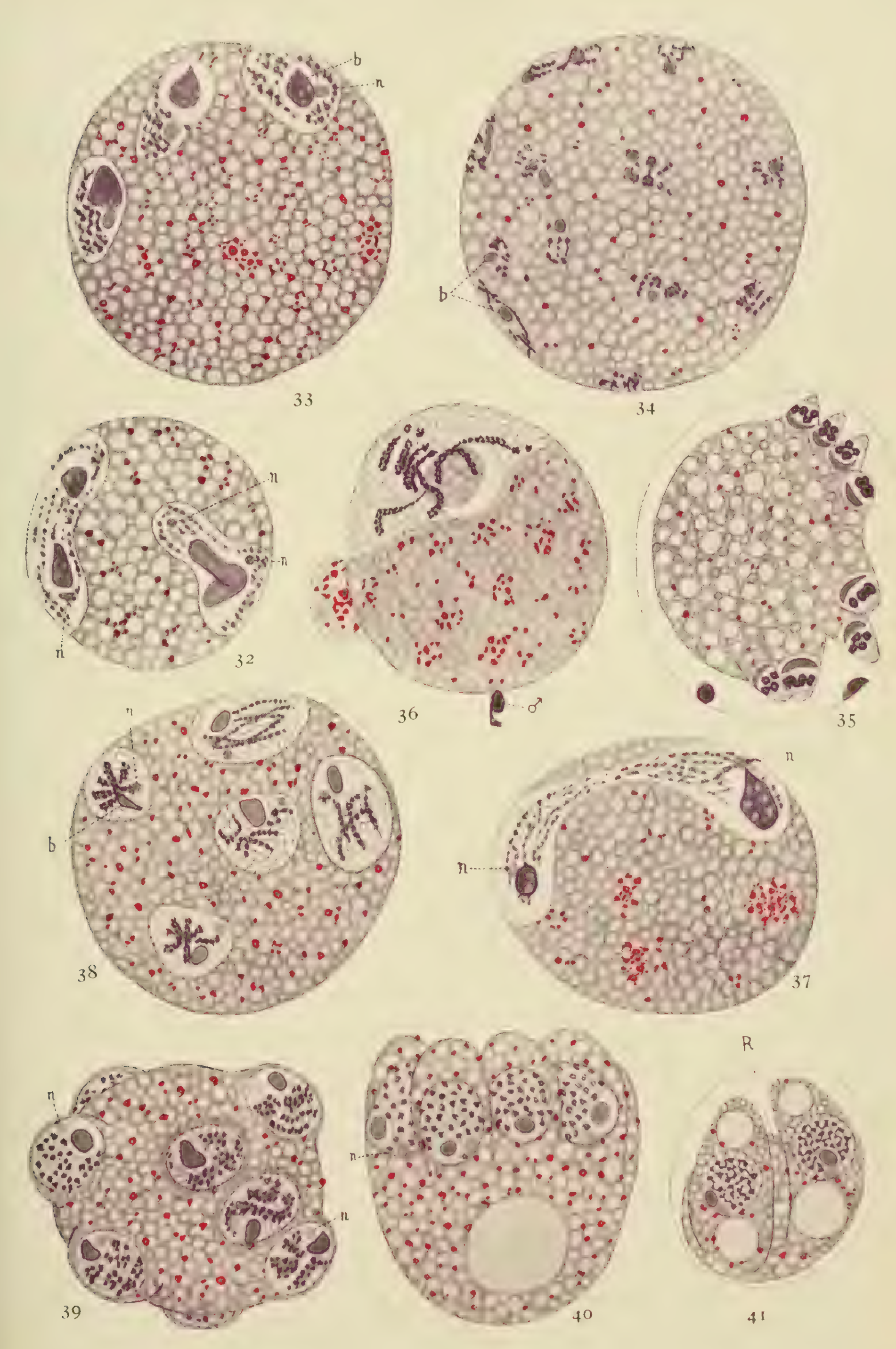
---




*E. Reichenow, pinx.*



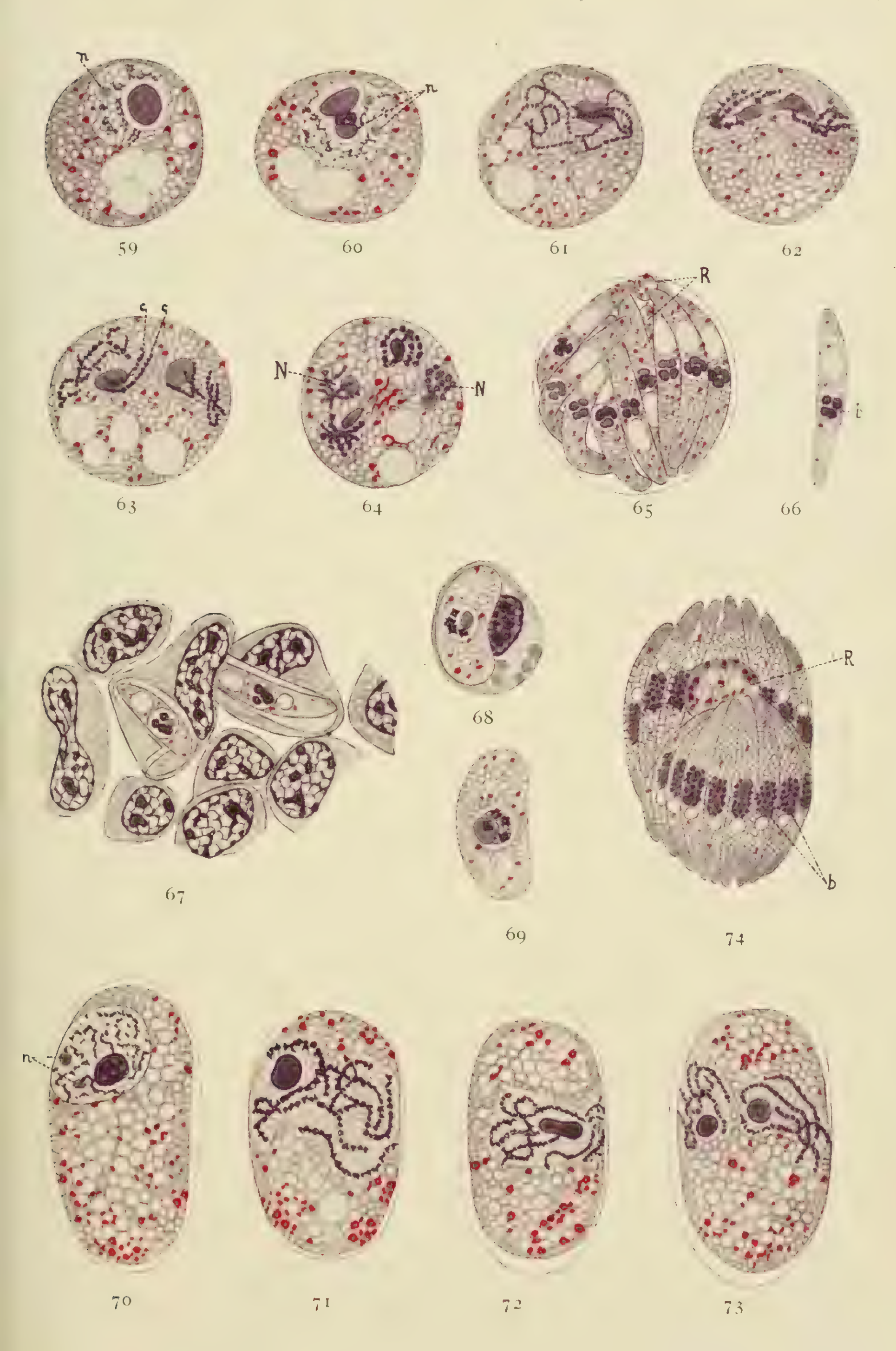

*E. Reichenow, pinx.*



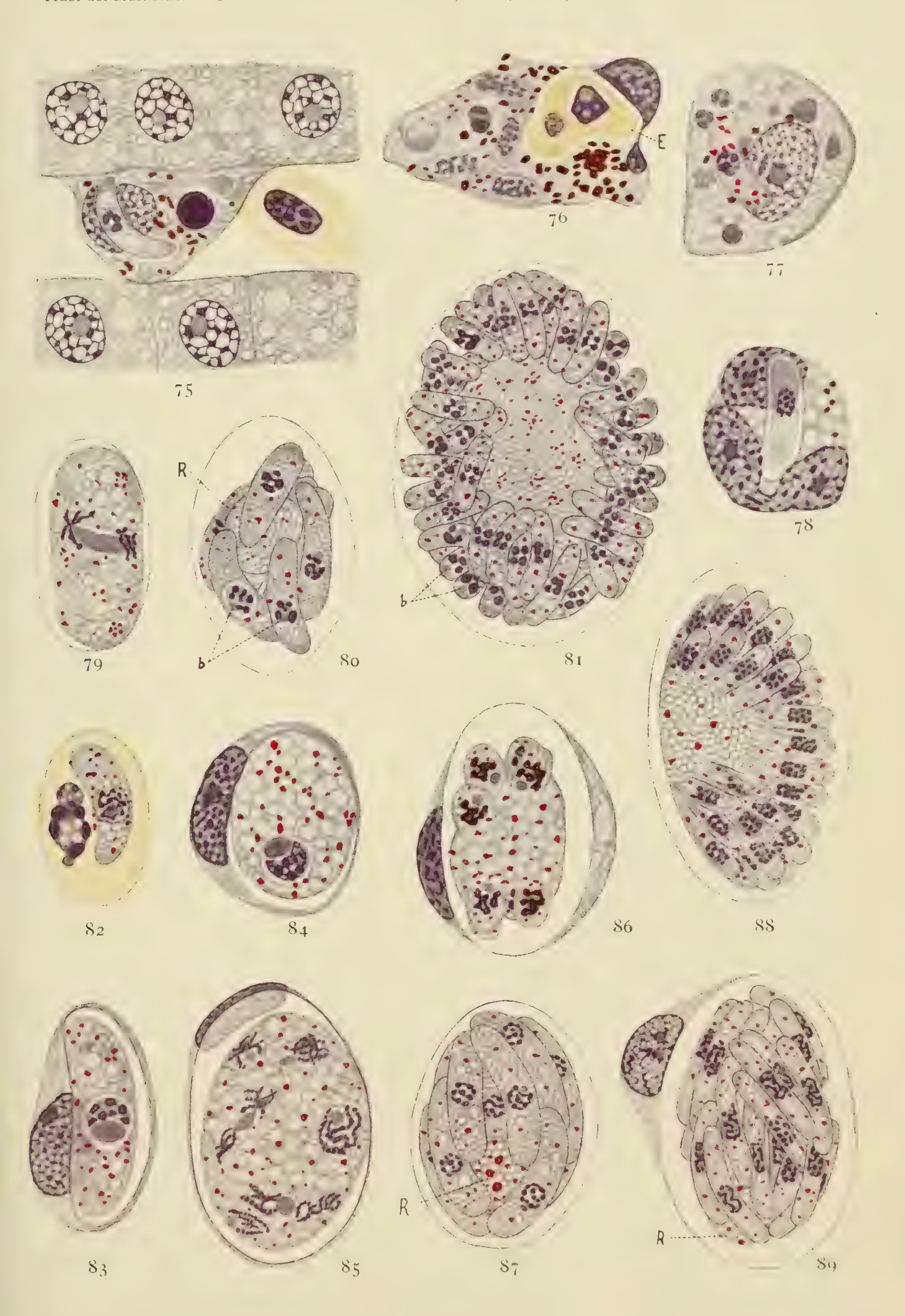

*E. Reichenow, pinx.*




*E. Reichenow, pinx.*



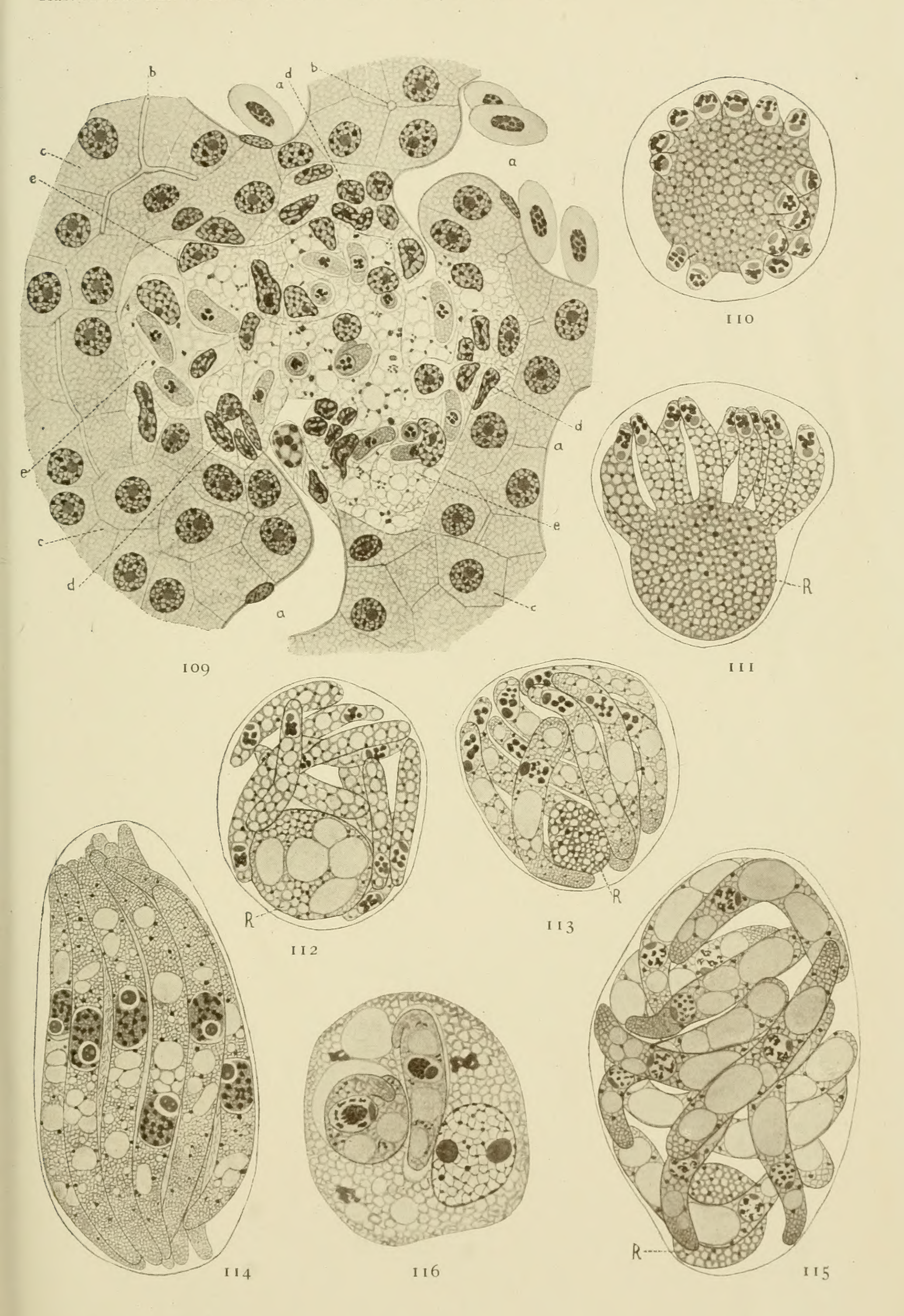

*E. Reichenow, pinx.*




*E. Reichenow, pinx.*




*E. Reichenow, pinx.*




*E. Reichenow, pinx.*

